Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

Antithrombin-III- und Faktor Xa-Inhibitor-Aktivität als mögliche Indikatoren einer Thromboseneigung bei Patienten mit apoplektischem Insult

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
WILLI DAISS
aus Schwäbisch Gmünd

1984

LIBRARY

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547612_0032

Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

Antithrombin-III- und Faktor Xa-Inhibitor-Aktivität als mögliche Indikatoren einer Thromboseneigung bei Patienten mit apoplektischem Insult

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
WILLI DAISS
aus Schwäbisch Gmünd

1984

Dekan:	Professor Dr. D. Plester
1. Berichterstatter:	Professor Dr. P. Ostendorf
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. F. Schumm

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Gliederung

		Seite
A.	EINLEITUNG	1
B.	MATERIAL UND METHODEN	16
C.	RESULTATE	37
D.	DISKUSSION	73
E.	ZUSAMMENFASSUNG	79
F.	LITERATURVERZEICHNIS	80
A.	EINLEITUNG	1
	I. Häufigkeit und Komplikationen tiefer Beinvenenthrombosen	1
	II. Pathogenese der Thromboseentstehung	5
	1. Stase-Komponente	5
	2. Endothelläsion	5
	3. Hyperkoagulabilität	6
	III. Diagnostik der tiefen Beinvenenthrombose	10
	IV. Zielsetzung	11
B.	MATERIAL UND METHODEN	16
	I. Material	16
	1. Reagentien	16
	2. Apparate	17
	a) Schnitger-Gross-Koagulometer	
	b) Photometer	
	c) Zentrifuge	
	d) pH-Meter	

Seite

II. Methodenheuristik 18
1. Sammeln geeigneter Blutproben von Normalpersonen zur Standardisierung eines Eichplasmapools
2. Gewinnung von Daten dieses Pools durch Anwendung bereits standardisierter Tests

III. Labortests 24
1. PTT 24
Pathromtin-Reagenz 24
Cephaloplastin-Reagenz
2. AT-III-Bestimmung mittels Partigenplatten 25
3. AT-III-Bestimmung nach der amidolytischen Methode 25
4. Quantitativer AT-III-Assay 26
5. Rate-Assay 28
6. Heparin-Bestimmung (Kabi-Coatest) 28

IV. Klinische Studie 31
a) Auswahl der Patienten 31
b) Blutentnahmen und Lagerung 31
c) Thromboseinzidenz-Erfassung mit radioaktiv markiertem Humanfibrinogen 33

V. Statistische Methoden 35

C. RESULTATE 37

I. Ergebnisse der Voruntersuchungen (Methodenheuristik) 37

II. Ergebnisse der Apoplexie-Studie 43
1. Klinische Ergebnisse 43
a) Thrombose-Inzidenz 43

Seite

-Umfangsvergrößerung-Hohmann-
Zeichen, Payr-Zeichen,
Thermische Differenzen
-Meßdaten (Scanner)
-Korrelation

b) Computertomographische Ergebnisse 43

c) Vergleich Heparin versus Heparin-
Dihydergot. 44

2. Laborergebnisse 45

a) PTT 45

b) Amidolytik 46

c) Quant.-AT-III-Assay 49

d) Rate-Assay 52

e) Heparin 55

f) Intermethodische Korrelation 57

3. Typisches Verlaufsprotokoll einer
beispielhaften Kasuistik 59

4. Zusammenhang / Klinik / Labor 71

D. DISKUSSION 73

E. ZUSAMMENFASSUNG 79

F. LITERATURVERZEICHNIS 80

A. EINLEITUNG

I. Bereits in der griechischen Antike sind postthrombotische und variköse Zustandsbilder beschrieben worden. Sehr eindrucksvoll ist dies auf einem Standbild des archäologischen Nationalmuseums in Athen dargestellt (Amynos - Heiligtum, Akropolis, 4. Jh. v. Chr.).

Die Häufigkeit tiefer Thrombosen schwankt nach den Sektionsstatistiken verschiedener pathologischer Institute zwischen 5 und 74 %:
SANDRITTER (81,82) 17,2 %, HILLEMANNS 21,3 %, DUDKO (78), PAVLOVSKIY (80) 5 %, ALLEN und HUNTER (83) 50 %, PERLICK (79) 74 %.

Im internistischen Krankheitsgut zeigte sich eine Häufigkeit venöser Thrombosen nach Myokardinfarkt zwischen 17,2 % und 29 % (7) und insbesondere bewirkte eine länger als 10 Tage andauernde Bettlägerigkeit eine Zunahme der Thromboseinzidenz.
Hinreichend gesichert ist das Auftreten von zwei klinisch relevanten Komplikationen tiefer Beinvenenthrombosen:

1. Die Lungenembolie:
   ==========

   Nach einer chirurgischen Statistik kommt es bei 6 Millionen Operationen pro Jahr zu 0,5 - 1 % tödlicher Lungenembolien. Dies entspricht etwa 15 000 Lungenembolien pro Jahr in der BRD (vergleichsweise erlagen den Verkehrsunfallfolgen 1975 16 000 Menschen) (1, 85,86). Diesen Daten entsprechen in den USA 50 000 bis 100 000 Lungenembolien pro Jahr.
   Von verhängnisvollen Lungenembolien in 4 % bis 7 % bei Patienten nach notfallmäßigen Hüftoperationen, sowie in 0,34 % bis 1,7 % bei ausgewählten Hüftoperationen und in etwa 1 % bei allgemein chirurgischen Eingriffen berichtet eine weitere Untersuchung (5).
   Die Mehrzahl der Fälle (98 %) (2) von Lungenembolien entsteht durch Abwanderung eines Thrombus aus tiefen Bein - resp. - Beckenvenen. Nach KAPPERT wird jedoch in 10 % die tödliche Lungenembolie vor Auftreten klinischer Symptome einer tiefen Venenthrombose diagnostiziert und in sogar 14 % der Fälle ergibt erst die manifeste Lungenembolie einen Hinweis auf eine Venenthrombose (3).

2. Eine weitere Komplikation der akuten oder subakuten tiefen Phlebothrombose ist das postthrombotische Syndrom. Nach KAPPERT ist dies zusammen mit dem daraus entstehenden Ulcus cruris für die praktische Medizin eine der wichtigsten und schwerwiegendsten Komplikationen venöser Durchblutungsstörungen (ca. 5 % der Bevölkerung befallen) (4).

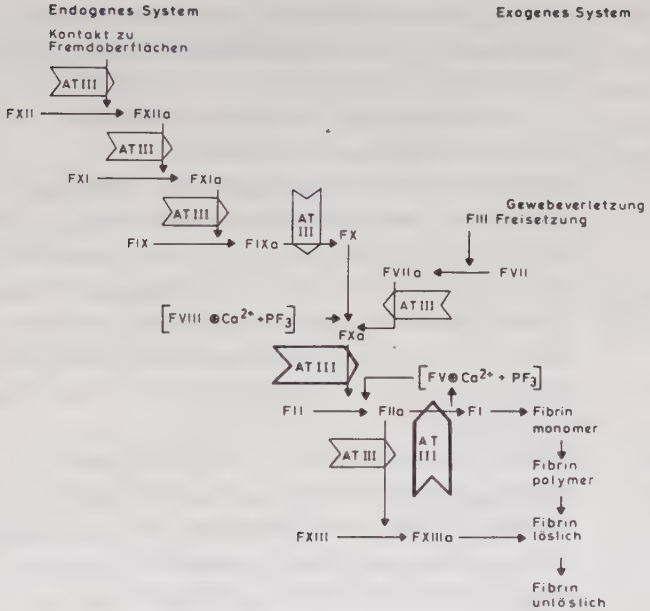
   Die akute oder subakute tiefe Phlebothrombose heilt ohne konsequente Therapie (Antikoagulantien, Thrombektomie, Fibrinolyse) nur in ca. 10 % der Fälle ohne klinisch faßbare Spätschädigung ab. Erschwert wird die Situation durch die Tatsache, daß in über 34 % der Fälle das akute resp. subakute Stadium einer tiefen Phlebothrombose anamnestisch und klinisch nicht erfaßbar ist und deswegen eine notwendige Therapie unterbleibt oder zumindest verspätet erfolgt.
   Moderne Konzepte einer Prophylaxe des postthrombotischen Syndroms, die die Entstehung der TVT (Tiefe Venenthrombose) verhindern, greifen auf unterschiedliche Weise in die Thrombogenese ein, die auf einer Gerinnung am falschen Ort beruht.

   Die Umwandlung des Proenzyms Prothrombin zu Thrombin stellt den zentralen Schritt der physiologischen Blutgerinnung dar. Die Zeitdauer dieses Vorgangs nach Einwirkung von Gewebssaft beträgt in vivo 3 - 5 Minuten. Dieser Zeitraum verstreicht bis zur Bereitstellung eines Umwandlungsfaktors, der als Thromboplastinaktivität bezeichnet wird. Hierunter versteht man die Gesamtheit enzymatischer Aktivitäten, deren Endprodukt das Prothrombin in Thrombin überführende Agens ist. Heute weiß man, daß diese Substanz dem aktivierten Faktor X entspricht.

Zwei Wege führen zum Ziel der Prothrombinaktivierung (oder Vorphase der Gerinnung). Der schnelle, in Sekunden ablaufende Mechanismus benötigt neben im Gewebe vorkommenden lipoiden Faktoren den Faktor VII, Fa.-V, Calciumionen und die Vorstufe von Fa.-X, um die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin zu katalysieren. Bei diesem Mechanismus wird Gewebsthrombokinase benötigt, die extra sanguinem lokalisiert ist. Deshalb wird dieser Vorgang extrinsic-System genannt.
Beim intravasalen (intrinsic-Weg), der einen längeren Reaktionsablauf zeigt, sind nur im Blut vorkommende Faktoren, nämlich die Faktoren XII, - XI, - IX, - VIII, - V, sowie Calciumionen und Plättchenfaktor 3 beteiligt. Voraussetzung zum Einsetzen der intravasalen Gerinnung ist der Zerfall von Blutplättchen, wobei es morphologisch zum Strukturverlust der Thrombozyten kommt.
Die dabei frei werdenden Lipoide bilden zusammen mit plasmatischen Gerinnungsfaktoren hochmolekulare Komplexe, die die Aktivatoren der Gerinnungsfaktoren der nächstfolgenden Reaktion in der Kaskade darstellen.

Die Prothrombinaktivierung erfolgt also in Form einer Kettenreaktion (12, 13).

Diese Kettenreaktion mit den Angriffspunkten seines hauptsächlichen physiologischen Inhibitors, des AT-III zeigt die nachfolgende Abbildung:



Wirkung von AT III innerhalb der Gerinnungskaskade

Folgende pathophysiologische Vorgänge katalysieren die obige Gerinnungskaskade:

II. Pathogenese der Thromboseentstehung:

II. 1,2. Schon 1856 erkannte VIRCHOW die Bedeutung der hämatorheologischen Stasekomponente für die Entstehung eines Blutgerinnsels. Nach THOMAS waren die Untersuchungen über die Pathogenese

venöser Thromboseentstehung dadurch behindert, daß man postulierte, die Plättchenaggregation lokalisiere sich vorwiegend an Stellen größerer Endothelläsionen (6). Erst in den letzten 25 Jahren richtete sich das Augenmerk bei der Suche nach den Ursachen der Thromboseentstehung bevorzugt auf folgende zwei Komponenten:

Blutströmungsverlangsamung (Stase)
und Hyperkoagulabilität.

Hiernach ist eine Reduktion der Muskelpumpe sowie eine Insuffizienz der Venenklappen für eine Verminderung der zentripetal gerichteten Blutströmungsgeschwindigkeit verantwortlich. Diese Stase-Komponente fördert im Zusammenspiel mit Intima - und - perivaskulären Entzündungsreaktionen das Entstehen eines Blutgerinnsels.

II. 3. WESSLER konnte, indem er Serum in eine ligierte große Vene injizierte, den Nachweis der Entstehung roter Thromben ohne Endothelläsion erbringen. Die Gefäßwandverletzung schien somit keine hinreichende Voraussetzung zur Thromboseentstehung zu sein. Es konnte vielmehr gezeigt werden, daß zur Gerinnselblutung eine um so kürzere Stasezeit nötig war, je mehr Serum resp. koagulationsfördernde Substanz injiziert wurde. Diese Erkenntnis lenkte das Augenmerk auf die Korrelation gehäufter Thromboseinzidenz und Hyperkoagulabilität. Pathophysiologisch wird deswegen zur Zeit das Konzept vertreten, daß 2 Faktoren der Virchow'schen Trias - Stase und Hyperkoagulabilität - die entscheidenden Voraussetzungen für die Entstehung einer tiefen Beinvenenthrombose sind, während die Intimaläsion als 3. Faktor vornehmlich im schnell

strömenden arteriellen Blutstromgebiet zu einer plättchenvermittelten Thrombosebildung (weißer Thrombus) führt.
Welche natürlich vorkommenden protektiven Systeme zur Aufrechterhaltung der rheologischen Hämostase konnten nun gefunden werden? MORAWITZ vermutete bereits 1905 das Vorhandensein eines natürlichen Inhibitors von Thrombin. In der nachfolgenden Tabelle sind die inzwischen bekannten wichtigsten physiologischen Regulatoren zur Kontrolle von Koagulation und Fibrinolyse aufgeführt (8).

Inhibitor	Konzentration	Mol.Gew.
Alpha-1-Antitrypsin	290 ± 45	54 000
" Antichymotrypsin	49 ± 7	69 000
Inter-alpha-Trypsin Inhibitor	50	160 000
Antithrombin III	24 ± 2	65 000
C 1-Inaktivator	24 ± 3	104 000
alpha-2-Makroglobulin	260 ± 70	725 000
alpha-2-Antiplasmin	7 ± 1	70 000

Nach ABILDGAARD et al. stellt Antithrombin-III den wohl bedeutensten physiologischen Inhibitor von Thrombin und aktiviertem Faktor-X dar. In verschiedenen Arbeiten konnte auch eine hemmende Wirkung von AT-III auf die Faktoren IX a, XIa und Faktor-XII a gezeigt werden. Diese physiologische Bedeutung von AT-III als Inhibitor der ersten Reaktion des intrinsic-Systems ist jedoch noch nicht hinreichend gesichert.

EGEBERG konnte 1965 eine starke Tendenz zur Entstehung venöser Thrombosen bei Patienten mit hereditärem AT-III-Mangel finden. Dies konnte von SAS, KAULLA und LECHNER bestätigt werden (9, 10, 11).
COLLEN et al. (1977) fanden hohe Blutkonzentrationen eines Thrombin - Antithrombin III - Komplexes bei Patienten mit "disseminierter - intravaskulärer Gerinnung".
Diese Erkenntnisse bestärkten die Hypothese, daß AT-III der wohl bedeutendste Inhibitor der Koagulations-Proteine ist.
Die Kinetik der Reaktion zwischen Thrombin und Antithrombin-III wird ausführlich bei JORDAN et al. (1979) beschrieben.
BRINKHAUS et al. zeigten schon 1939 experimentell unter Verwendung von Heparin, daß der inhibierende Effekt des sulfatierten sauren Polioaminoglykans Heparin nur in Gegenwart eines im Plasma vorhandenen Heparin-Cofaktors, nämlich AT-III erfolgt (15).
Ebenso konnte gezeigt werden, daß Heparin sowohl eine Affinität zu AT-III als auch zu Thrombin hat (16, 17).
Eine schlüssige Theorie basiert auf der Vermutung, daß Heparin seinen antikoagulatorischen Effekt durch Bindung an AT-III und die dadurch bedingte Transformation in eine schnellere aktive Inhibitorkomponente ausübt (20, 22).

Nachfolgende Figur zeigt einen möglichen Mechanismus der Interaktion Heparin-AT-III-Thrombin:

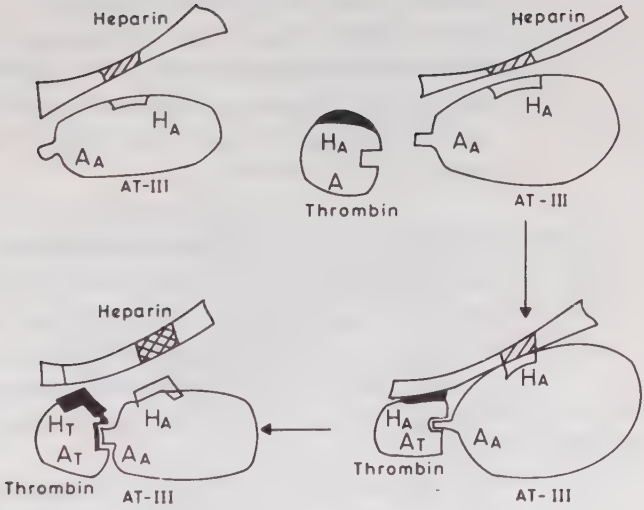


Abb.: Hypothetischer Mechanismus für die Hemmung von Thrombin durch Antithrombin-III in Anwesenheit von Heparin
H: Heparin-bindungsstelle
A: aktive Inhibitorseite
AT-III: Antithrombin III

Heparin scheint sich hierbei in einer flexiblen Helixstruktur sowohl an AT-III als auch an Thrombin anzulagern (19). Die genauen sequentiellen Schritte dieser Inaktivierung von Thrombin durch Heparin und AT-III sind in der obigen Abbildung dargestellt.
Wie auch immer die Interaktion zwischen Heparin, AT-III und Thrombin stattfinden mag, es wurde in vielen Arbeiten (BLOMBÄCK 1963, EGEBERG 1965, BIGGS und DENSEN 1976, ABILDGAARD 1967, YIN 1971, sowie ROSENBERG und DAMUS 1979) bestätigt, daß AT-III das Plasma-Protein darstellt, durch welches Heparin seine Wirkung der Thrombininhibition ausüben kann. Mit anderen Worten: der progressive natürliche Inhibitor AT-III wird durch Heparin in einen sofort wirkenden Inhibitor umgewandelt.

III. Diagnostik tiefer Beinvenenthrombosen (48)

Wie aus vielen Statistiken bezüglich tiefer Beinvenenthrombosen hervorgeht, besteht eine erhebliche Diskrepanz zwischen der Zahl von Thrombosen, die nach Sektionen gefunden wurden und der Zahl der diagnostizierten Thrombosen.
Im folgenden sollen nun die wichtigsten zur Diagnostik zur Verfügung stehenden Methoden kurz erwähnt werden:

1. Ultraschallverfahren (DOPPLER-Sonographie zum Nachweis von Beckenvenenthrombose (49, 50).
   Treffsicherheit ca. 90 %.
   Nachteil: Bessere Treffsicherheit bei nicht adipösen Patienten.
   Nichterfassen von Thromben, welche nicht in den Hauptvenen liegen.

2. Phlebographie zum Nachweis tiefer Unterschenkelvenen-Thrombosen (Treffsicherheit 90 %).
   Nachteil: Kontrastmittelzwischenfälle.

3. Plethysmographie (52):
   Mit diesem Verfahren kann nur in etwa 60 % der Fälle eine akute tiefe Beinvenenthrombose nachgewiesen werden.

4. Radiojodfibrinogentest (51, 53, 54):
   Nachteil: Nur in größeren Zentren mit nuklearmedizinischer Ausrüstung als Suchmethode anwendbar.
   (Treffsicherheit: ca. 90 % im Unterschenkelbereich.)

5. Thermographie:
   Der thrombotische Verschluß tiefer Venen bewirkt in der betroffenen Extremität frühzeitig einen Anstieg der Hauttemperatur. Temperaturdifferenzen von minimal 0,2°C können noch erfaßt werden (55).
   Nachteil: Die Methode hat sich wegen geringer Spezifität des isolierten Symptoms "Temperaturanstieg" nicht bewährt.

6. Klinische Methoden:
   Umfangsdifferenzen, Erwärmung, Rötung, Homann-Zeichen, Payr-Zeichen etc.

IV. Zielsetzung

Seit über 30 Jahren (23) werden die Zusammenhänge zwischen intravaskulärer Koagulabilität und dem Potential an Inhibitoren, die die Gerinnungsfähigkeit des Blutes beeinflussen, untersucht.

Wie schon oben erwähnt, wurde hierbei AT-III als einer der wesentlichsten Gegenspieler (24-30, 8) der Gerinnung im menschlichen Plasma gefunden.
In späteren Arbeiten zeigte sich, daß AT-III neben Thrombin ein wichtiger Gegenspieler von Faktor-Xa ist (31).
In einigen Arbeiten konnte zusätzlich gezeigt werden, daß unter Zugabe von Faktor-Xa die Anti-Xa-Wirkung von Heparin erfaßt wird, die der AT-III-Wirkung an Empfindlichkeit überlegen ist (34, 35).
Schon durch die Zugabe geringer Spuren von Heparin verändert sich die biologische Aktivität von AT-III exponentiell (32). Diese Beobachtung führte zu den Versuchen mittels einer schon geringen Heparin-Dosis tiefe Beinvenen-Thrombosen zu verhindern. Die Hypothese war, daß zur Prophylaxe viel weniger Heparin nötig ist als zur Therapie (56, 57, 58, 59).
Zum Zweiten führten diese Erkenntnisse der pathophysiologischen Bedeutung des AT-III zur intensiven Suche nach geeigneten AT-III-Bestimmungsverfahren.
Im wesentlichen unterscheidet man Bestimmungsverfahren, die sich in immunologische (33) und funktionelle (34, 35-40) Methoden gliedern.
Bei den immunologischen Methoden ergibt sich nachteilig eine lange Inkubationszeit bis zum Erlangen des Meßergebnisses (z. Beispiel 72 Stunden bei der Partigenmethode). Ferner werden auch die biologisch nicht aktiven sowie die biochemisch verwandten Metabolite

bei der Bestimmung miterfaßt. Daraus ergeben sich zu hohe falsch-positive Werte. Bei der amidolytischen Methode, die ein hinreichend schnelles Testergebnis liefert, ergeben hohe Bilirubinwerte und sonstige Farbreaktionen des Testgemisches einen nicht verwertbaren photometrisch meßbaren Extinktionsbereich, sofern die Endpunktmethode durchgeführt wird. Ein Nachteil der amidolytischen Methode als der wesentlichsten funktionellen Methode ist zusätzlich, daß der Testansatz eine Abhängigkeit von der im Plasma vorhandenen Thrombin- oder-Faktor-Xa-Neutralisationsaktivität zeigt.

Diese Überlegungen veranlaßten erstmals YIN und WESSLER ein Testverfahren, das obige Probleme berücksichtigt, zu entwickeln. Nach einiger Testansatzheuristik (Inkubationszeiten, geeigneter pH-Wert, geeignete Meßtemperatur, geeignete Puffersubstanzen) kristallisierte sich ein Testprinzip heraus, dessen Wertigkeit bzw. Überlegenheit im Vergleich zu den üblichen funktionellen bzw. immunologischen Tests noch nicht endgültig definiert ist.

Ziel der nachfolgenden Arbeit ist der Nachweis, ob durch Heparin allein bzw. durch Heparin-DHE (DHE = Dihydroergotamin) die Thromboserate in einem definierten Patientengut beeinflußt werden kann und ob die klinischen Ergebnisse mit Veränderungen des Gerinnungspotentials insbesondere den AT-III-Spiegeln korrelieren.

Aus dieser Zielsetzung ergaben sich folgende Punkte und Fragestellungen:

1) Standardisierung von AT-III-Tests (funktionell, immunologisch, Anti-Xa-Aktivität).

2) Einfluß von Hyperlipidämie und Oestrogenmedikation auf die AT-III-Aktivität resp. Faktor-Xa-Inhibitoraktivität bei "Normalpersonen".

3) Thromboserate bei Patienten mit frischem Apoplex unter Heparin bzw. Heparin-DHE.

4) Beziehung einer feststellbaren Thromboseinzidenz mit AT-III-Aktivität.

"EXPERIMENTIEREN IST WIE DAS ERKLIMMEN EINES ROLLHÜGELS, WENN MAN AUFHÖRT TREIBT MAN ZURÜCK"

B. MATERIAL UND METHODEN:

I. Materialien:

1. Reagentien:

Abildgaarpuffer, pH 8,4
Aktiviertes Cephaloplastin (Dade)
Antithrombin III (Kabi)
Antikoagulantienfreies Rinderplasma
- Cephalin (AFB-Ceph.)

Aktivierter Faktor X (Sigma-Chem.-Co.)
Aqua-(bi)-destillata
Bovines Serumalbumin (BSA: Sigma-Chem.-Co.)
Calziumchlorid: 0,25 mol/L (B)
Chromogenes Substrat für Thrombin (Chromozym ^{R}TH-
Fibrinogen-Jod 125-radioaktiv markiert)
(Amersham Buchler)
Frigen^{R} (Hoechst)
Kombination von Na-Heparin und Dihydroergotaminsulfat
als Prüfsubstanz (Heparin-Dihydergot^{R}-Sandoz)

Lyophilisiertes Substrat (S- 2222^{R}-Kabi)
Menschliches Normalplasma (Kabi)
Monospezifisches Antiserum gegen Antithrombin III-
Plasmaprotein (Behring)

Natriumcitrat
Owren's Veronalpuffer
Physiologische Kochsalzlösung (Fresenius)
Puffer, 0,02 mol/l-Trismaleate (Sigma-Chem.-Co.)
Reagenz zur Bestimmung der PTT (Pathromtin^{R}-Behring)
Rinderthrombin (Dade)
Rinderthrombin (Behring)

2. Apparate:

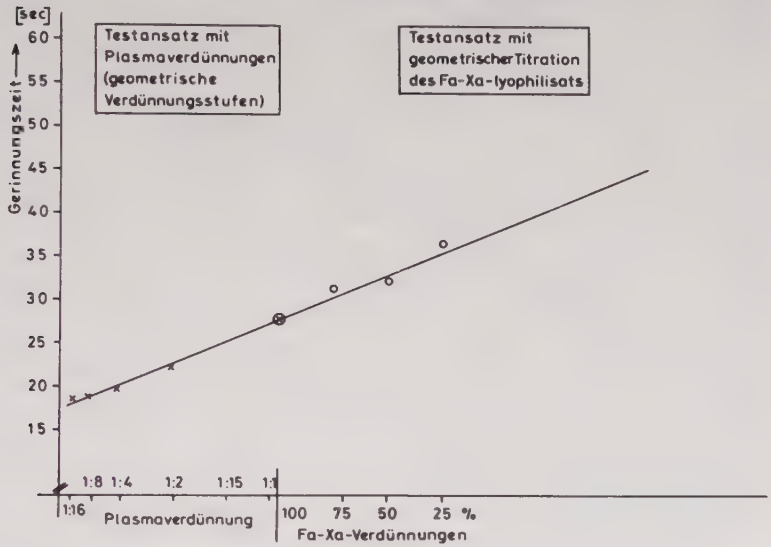
Koagulometer nach Schnitger und Gross (Amelung)
Handstoppuhr (Hanhart)
Immundiffusionsplatten (M-Partigen^{R}-Behring)
Kühlschrank (Temp. -70^{o} C)
Meßband
Meßpipetten (Eppendorf)
Meßprojektor für Immunanalysen (Behring)
Photometer (Eppendorf)
Radioaktiv-Detektor
Reagenzröhrchen (Sarstedt)
Venenpunktionsbestecke
Volumendosierer (Partigendispenser^{R}-Behring)
Wasserbad und Thermostat
Zentrifuge

II. Methodenheuristik

1.) Für die quantitative "AT-III"-Bestimmung (= immunologisch), die Bestimmung der Antithrombin-III-Aktivität (= amidolytisch), die anti-Fa-Xa-Aktivität (Rate-Assay), sowie für die Heparin-und die PTT-Bestimmung wurden mittels eines Plasmapools gesunder Probanden Eich- bzw. Standardkurven erstellt (siehe Abb. 1-5).
Hierbei wurden die geeigneten Inkubationszeiten, die pH-Werte, die Dosis der Puffersubstanzen sowie die idealen Temperaturbedingungen zur Durchführung der Meßanalyse eruiert.

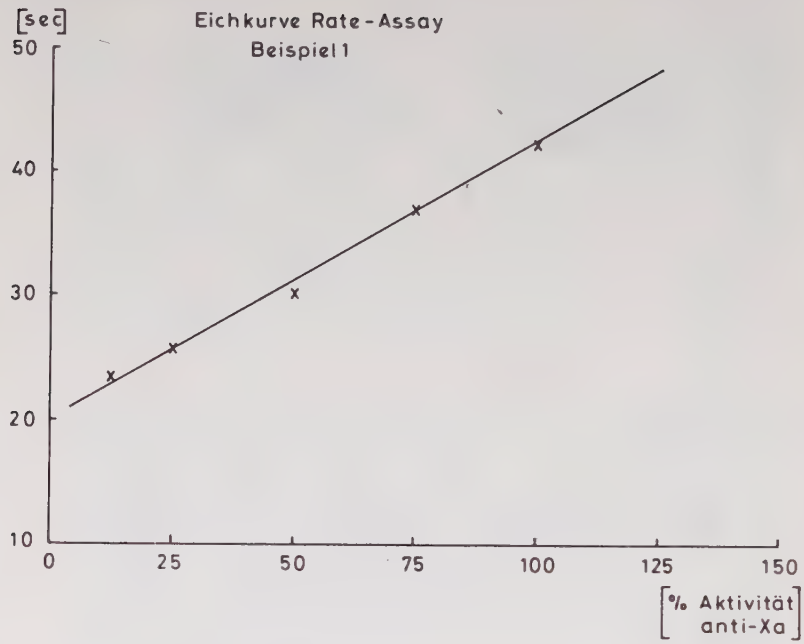
2.) In den obigen Voruntersuchungen konnte für den zeitabhängigen Gerinnungsschritt durch eine doppelt geometrische Verdünnungsreihe, nämlich Titration der Anti-Xa-Aktivität durch entsprechende Pufferzugabe auf der einen Seite des Testansatzes sowie Verdünnung der die Gerinnung auslösenden Fa-Xa-Zugabe auf der anderen Seite, eine lineare Funktion gefunden werden. Diese bestätigt die Annahme einer (1 : 1) Fa-Xa-Inhibitor-Thrombin-Komplexbildung.
Einzelheiten zeigt die nachfolgende Abbildung:

Abb.6: VERANSCHAULICHUNG der stöchiometrischen 1:1-KOMPLEXBILDUNG zwischen FA-XA-INHIBITOR (resp) AT-III und FA-X-A-AKTIVITÄT



3.) Die Analysenwerte des Quant.-AT-III-Tests sowie des Rate-Assay's wurden mit den Ergebnissen der Amidolytik und der Partigen-Plattenmethode verglichen.
Die interne Kontrolle bei allen Versuchen erfolgte durch den Plasmapool, der aus Blutproben von 60 gesunden Probanden gewonnen wurde (siehe Ergebnisteil).

Eichkurven:


[sec]
Eichkurve Rate-Assay
Beispiel 1
50
40
30
20
10
0
25
50
75
100
125
150
[% Aktivität anti-Xa]

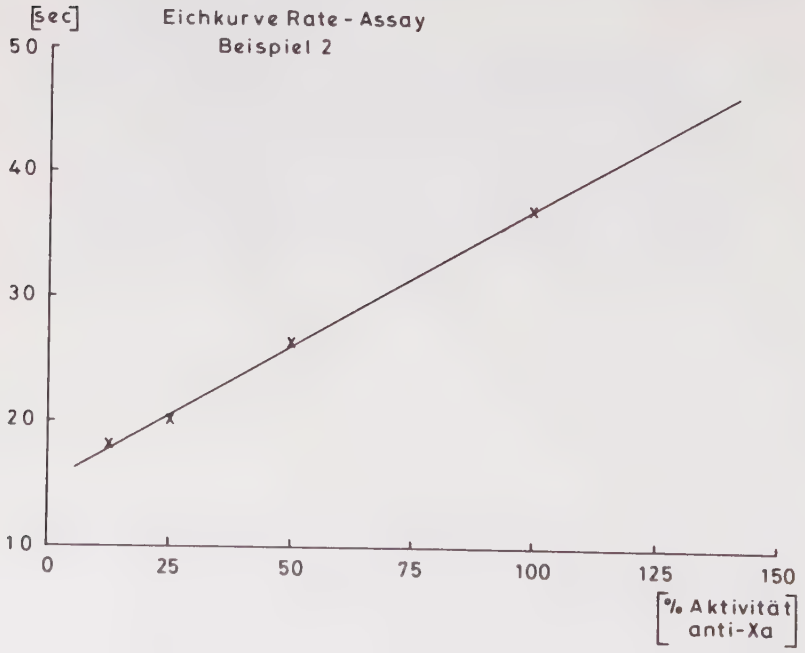

[sec]
Eichkurve Rate-Assay
Beispiel 2
50
40
30
20
10
0
25
50
75
100
125
150
[% Aktivität anti-Xa]

Abb. 2: Amidolytische Methode

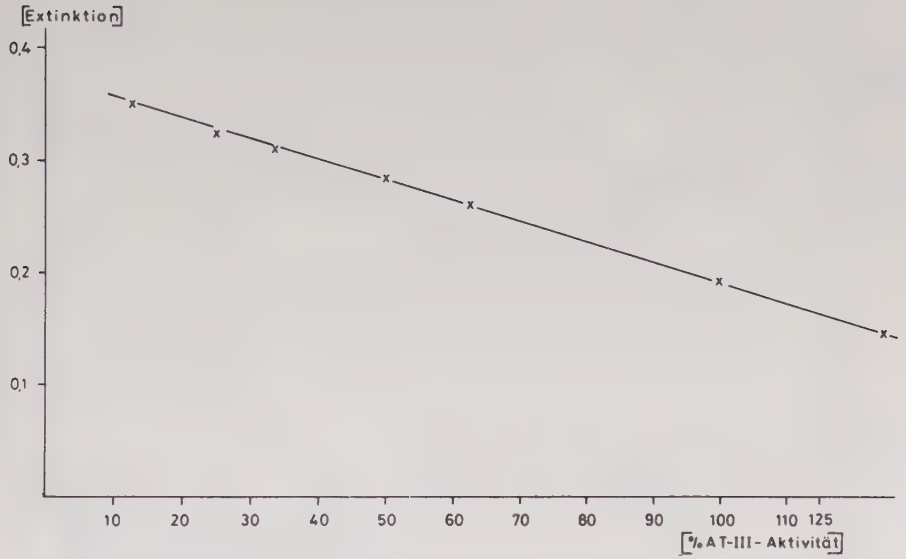


Abb. 3: AT-III (Partigen-Platte)

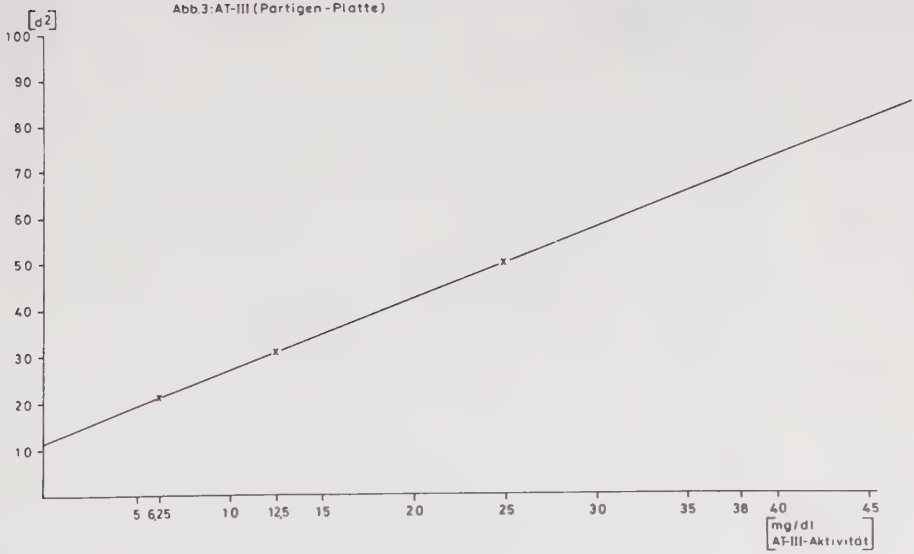


Abb.4: Fa-Xa-Eichkurve

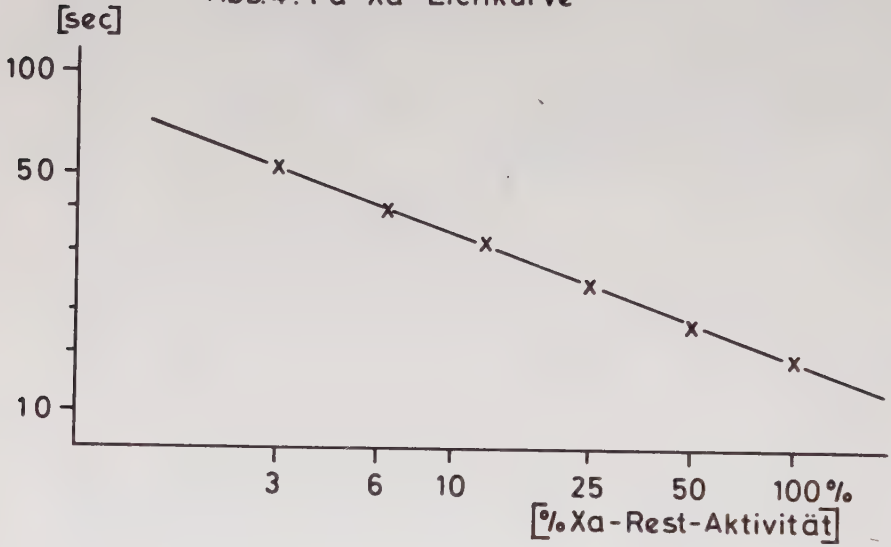


Abb.5a: Heparin-Eichkurve

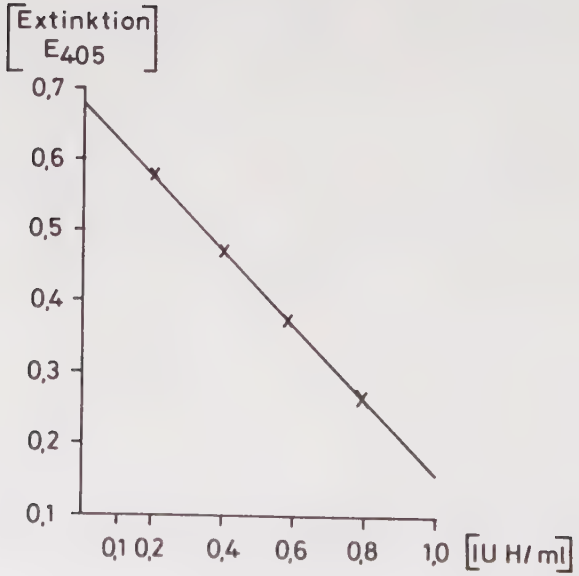
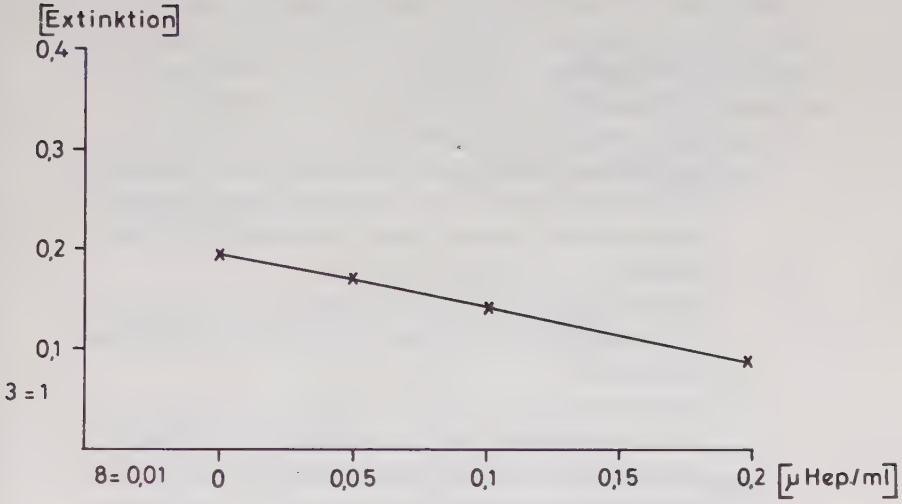


Abb. 5b: Heparin-Eichkurve



III. Labortests

1.) Bestimmung der Partiellen Thromboplastin-Zeit (PTT)

(Bell und Alton 1954)
Behring und Dade-Methode:

a) Vorbereitungen:

1. Koagulometer einschalten und vorwärmen auf 37^{o} C, auf 0,3 einstellen.
2. Patienten - Citratblut bei 3000 U/min. 10 Minuten zentrifugieren (thrombozytenarmes Plasma), überstehendes Plasma in ein sauberes Plastikröhrchen abpipettieren und im Eisbad aufbewahren.
3. Calcium-Chlorid im Koagulometer einige Minuten vorwärmen.
4. Pathromtin: Durch Umkippen der Kaolin-Suspension in das Fläschchen mit PTT-Reagenz, wird das Lyophilisat gelöst. Nach 5 Minuten langem Stehen unter gelegentlichem Umschütteln bei Raumtemperatur ist das Reagenz gebrauchsfertig. Vor Gebrauch kurz aufschütteln.

b) Durchführung:

Quick-Röhrchen ins Koagulometer setzen, dazu pipettieren:

0,1 ml PTT-Suspension (frisch suspendiert!) +
0,1 ml Patienten-Plasma.

Dann genau 2 Minuten bei Pathromtin (Behring), 4 Minuten bei Cephaloplastin (Dade) inkubieren. Danach 0,1 ml Calcium-Chlorid-Lösung dazugeben und gleichzeitig die eingebaute Stoppuhr durch Loslassen des Knopfes in Gang setzen. Röhrchen kurz aus dem Koagulometer herausnehmen und schwenken, wieder einsetzen und Elektrode aufstecken (nach 15 sec.).

Nach Stehenbleiben der Uhr die Gerinnungszeit ablesen.

2.) Die AT-III-Bestimmung mittels Partigenplatten wurden mit den von der Firma Behring vorgefertigten Immundiffusionsplatten für quantitative Plasmaproteinbestimmungen durchgeführt.
Die Immundiffusionsplatten wurden pro Auftragsstelle mit 0,005 ml Proteinstandardplasma bzw. mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnten Patientencitratplasmen (1:2 und 1:4) beschickt. Nach 72 Stunden Ausmessen der Präzipitatringe mit dem Meßprojektor und Quadrieren der erhaltenen Werte. Mittelwert des Plasmapools
28,17 mg/dl
SD 2,63 mg/dl

3.) Antithrombin III-Aktivität im Plasma
(Amidolytische Methode nach ABILDGAARD et al. 1975)

a) Vorbereitung:
Test-Thrombin in 3 ml aqua dest. lösen; diese Lösung enthält dann 10 IK/ml. Aufbewahren im Eisbad.
Chromozym in 5 ml aqua dest. lösen und ins Wasserbad stellen.
Ansatz von Verdünnungsreihen: (1:50)

Abildgard Puffer	4,9 ml
Frigenentfettetes^{R} Plasma	0,1 ml
Gebrauchslös.	5,0 ml

P_2 (Plasmapool) verdünnt (1:50) = 100 %

b) Testdurchführung:
0,4 ml der Gebrauchslösung 120 sec. im Wasserbad inkubieren
0,1 ml Thrombin zu obigem Gemisch hinzupipettieren und 30 sec. im Wasserbad (37°C) inkubieren
0,3 ml Chromozym TH hinzufügen und weitere 30 sec. inkubieren

Reaktion mit 0,3 ml Eisessig stoppen
Extinktionsmessung bei 405 nm gegen Leerwert
(0,4 ml Referenzplasma, 0,3 ml Eisessig,
0,4 ml aqua dest.)

c) Testprinzip:
Chromogenes Substrat (farblos) $\xrightarrow{\text{Thrombin}}$ p. Nitroanilin (gelb)

Normalwert: (80 - 116) % - AT-III-Aktivität
Plasmapoolwert: (100 ± 9,8) % -AT-III-Aktivität

4.) Quantitativer AT-III-Test
(modifiziert nach YIN und WESSLER) (62, 63)

a) Aufstellen einer Fa-Xa-Standardkurve
Der lyophilisierte Fa-Xa- wurde mit 2 ml Trispuffer, pH 7,5, aufgelöst. Von dieser Fa-Xa-Standardlösung wurde mit Trispuffer, der 1 % Rinderalbumin als Stabilisator (77) enthält, eine Verdünnungsreihe hergestellt.
0,1 ml der Fa-Xa-Lösung wird in ein Coombs-Teströhrchen, welches 0,3 ml Trispuffer und 0,1 ml Heparin (0,5 u/ml) enthält, bei 37° C pipettiert. Dieses Reaktionsgemisch wird bei 37° C in einem Schnitger-Gross-Koagulometer für 330 sec. inkubiert. Danach wurde 0,1 ml des obigen Reaktionsgemisches in ein Teströhrchen pipettiert. Sofort wird 0,1 ml $CaCl_2$ und 0,2 ml AFB-Cephalin hinzugefügt. Nun wird die Gerinnungszeit des Reaktionsgemisches gemessen. Die unverdünnte Fa-Xa-Probe wurde als 100 %-Wert gesetzt.

b) Test-Durchführung
Zu 0,2 ml Trispuffer, aufbewahrt bei 37° C, wurde 0,1 ml Heparin (0,5 u/ml) gefolgt von 0,1 ml ver-

dünntem NHP-Plasma (NHP = Normal Human-Plasma) pipettiert. Als geeignete Verdünnung ergab sich ein 1:200 Gemisch.
Das obige Reaktionsgemisch wurde bei 37° C für 30 sec. inkubiert. Danach wurde 0,1 ml unverdünnte Fa-Xa-Lösung hinzugefügt. Dieses Gemisch wurde 300 sec. inkubiert. Anschließend wurden 0,1 ml der obigen Lösung in ein zweites Quickröhrchen pipettiert, gefolgt von 0,1 ml $CaCl_2$ und 0,2 ml AFB-Cephalin, das bei 37°C bereitgestellt war. Danach wurde die Schnitger-Gross-Elektrode eingesetzt und die Gerinnungszeit gestoppt.

c) Kurze zusammenfassende Erläuterung des Testprinzips

Das Prinzip des Testes beruht auf einer Titration von AT-III in menschlichem Plasma.
Die Beobachtung, daß AT-III schon in geringen Heparinspuren die Koagulationsfähigkeit menschlichen Blutes verhindert, führte zu der Überlegung, in genügend hohen Plasmaverdünnungen zu arbeiten, so daß die verbleibenden Heparinspuren keinen Einfluß mehr auf die AT-III-Komplex-Bildung haben.
Verdünnt man Plasma-Proben, die AT-III enthalten, bis zu dem Punkt, an dem alles restliche AT-III durch Inhibition mit Fa-Xa verbraucht ist, so ergibt dies bei bekanntem Gehalt an Fa-Xa eine meßbare Größe an AT-III in dem vorliegenden Reaktionsgemisch.

Die Differenz der Fa-Xa-Konzentration vor und nach der Neutralisation durch AT-III ist bei der Annahme einer 1:1 Komplexbildung von Fa-Xa und AT-III ein genaues Maß zur Bestimmung der AT-III-Menge des zu untersuchenden Probanden-Plasmas.

5.) Rate-Assay

Zu 0,5 ml menschlichen Plasmas wurde 0,4 ml Trispuffer pipettiert und das Gemisch im Schnitger-Gross-Koagulometer für 1 min. bei 37°C inkubiert. Danach wurde 0,1 ml der Fa-Xa-Lösung hinzupipettiert.
90 sec. nach der Fa-Xa-Zugabe wurde 0,1 ml des Reaktionsgemisches in ein zweites Teströhrchen, das auf 37°C vorgewärmt war, pipettiert. 20 sec. später wurde 0,1 ml $CaCl_2$ hinzugefügt; weitere 10 sec. später 0,2 ml AFB-Cephalin. Danach wurde die Schnitger-Gross-Elektrode eingesetzt und die Gerinnungszeit gestoppt.
Nun wurde mit einer Verdünnungsreihe, gemessen am Plasma von geeigneten Normalpersonen, eine Eichkurve aufgestellt.
Die Anti-Xa-Plasmawerte der Patienten mit apoplektischem Insult wurden mit Hilfe einer Eichkurve abgelesen. Dabei ist die Konzentration der jeweiligen lyophilisierten Fa-Xa-Charge zu beachten.

6.) Heparin-Bestimmung
(Coatest Heparin, Kabi München)

a) Vorbereitung:
Fa-Xa in 10 ml Aqua dest. auflösen.
AT-III in 10 ml Aqua dest. auflösen.
S-2222in 20 ml Aqua dest. auflösen.
Der Puffer ist bereits gebrauchsfertig.
Normal-Plasma in 1 ml Aqua dest. auflösen.
Alle Reagentien zunächst ins Eisbad.
Für die Heparin-Bestimmung einen Teil des S-2222auf 37°C anwärmen (Koagulometer), einen Teil des Fa-Xa auf Zimmertemperatur bringen (Rest wieder ins Eisbad).

Eichkurve:

Heparinlösung ansetzen:

4,9 ml Puffer

0,1 ml Heparinlösung, die 10 IU/ml enthält

= Heparinlösung mit 0,2 IU/ml

Ansatz für die Eichkurve:

	Puffer ml	AT-III ml	Heparin ml	Norm.-Pl. ml	IU Hep./ml
S1	0,8	0,1	0	0,1	0
S2	0,7	0,1	0,1	0,1	0,2
S3	0,6	0,1	0,2	0,1	0,4
S4	0,5	0,1	0,3	0,1	0,6
S5	0,4	0,1	0,4	0,1	0,8

b) Vorbereitung des Pat.-Plasmas:

Citratblut 1:10 verdünnt

5 min. bei 3000 Umdrehungen zentrifugieren

Das Plasma mit Frigen behandeln:

0,5 ml Plasma und 0,5 ml Frigen in ein Eppendorf-hütchen (Gasentwicklung!)

1 min. auf den Mixer

2 min. zentrifugieren

Plasmaverdünnung:

0,8 ml Puffer
+ 0,1 ml AT-III
+ 0,1 ml Plasma

1,0 ml Gebrauchslösung

gut mischen

Plasma ins Eisbad stellen.

c) Durchführung:

1. Je 0,2 ml der Gebrauchslösung für den Hauptwert (HW) und den Leerwert (LW) in ein Quickröhrchen.
2. HW + LW bei 37° C (Koagulometer) 210 sec. inkubieren.
3. 0,1 ml Fa-Xa (Zimmertemperatur) und HW
4. nach genau 30 sec. 0,2 ml S-2222 (37° C) dazu
5. nach genau 180 weiteren sec. die Reaktion mit 0,3 ml 50%iger Essigsäure stoppen.
6. In den LW ebenfalls 0,3 ml 50%iger Essigsäure und 0,3 ml Aqua dest. (= HW und LW gl. Volumen)
7. Extinktionsmessung bei 405 mm HG gegen den jeweiligen LW (zu jedem HW ein LW).
8. Doppelbestimmungen.

IV. Klinische Studie

1.) Patientenauswahl

Bei 32 Patienten, die akut an einem apoplektischen Insult erkrankten, wurde die Inzidenz tiefer Beinvenenthrombosen eruiert.
Die Untersuchung war als Doppelblindprüfung (Thromboseprophylaxe mit 3 x 5000 IE Heparin (HP-Gruppe) oder 3 x 2500 IE Heparin ⊕ 0,5 mg Dihydroergotamin (HDHE-Gruppe) mit randomisierter Patientenzuteilung angelegt. Die Patienten, die an einem apoplektischen Insult erkrankt waren, rekrutierten sich aus der Medizinischen und der Neurologischen Universitätsklinik.
Das Alter der Patienten schwankte zwischen 52,2 und 83,5 Jahren. Mittelwert $\bar{A}$ = 72,03 Jahre
Die Geschlechtsverteilung war mit (15) männlichen Patienten zu (17) weiblichen Patienten annähernd gleich verteilt.
Als stationärer Klinikaufenthalt waren mindestens 10 Tage angesetzt. Eine Einverständniserklärung, die vom Patienten selbst oder nächsten Angehörigen unterzeichnet wurde, dokumentierte die Bereitschaft zur Studienteilnahme. Von der Studie ausgeschlossen waren Patienten mit manifesten Schilddrüsenerkrankungen.
Die Studienanlage und die Durchführung wurden durch die Ethikkommission der Universität Tübingen genehmigt.
Auf eine Kontrollgruppe wurde wegen der hinreichend gesicherten Notwendigkeit einer Antithromboseprophylaxe bewußt verzichtet (64,65,66).

2.) Durchführung

An dem der unmittelbaren Klinikeinweisung folgenden Tag wurde den Patienten 100 µ Ci 125-Jod-Fibrinogen intravenös verabreicht. Zu diesem Zeitpunkt, der im

Verlaufsprotokoll als Tag O codiert wurde, waren außer Rheomacrodexinfusionen keine medikamentösen Maßnahmen, die zu Veränderungen hämato-rheologischer Eigenschaften führen, durchgeführt worden. Auch während der Post-apoplexiephase waren bis zum Auftreten einer "radio-positiven Thrombose", außer der Prüfsubstanz und Rheo-macrodexinfusionen keine zusätzlichen antikoagulatori-schen Medikamente zugelassen.
Ab Tag 1 (in der Regel 12-24 Stunden nach Jod-125-Applikation) wurden doppelt blind entweder 3 x 5000 IE Heparin/die (HP) respektive 3 x 2500 IE HP + 0,5 mg Dihydroergotamin (HDHE) verabreicht. Mittels eines Isotopen-Scan-Counters wurden während eines Zeitraumes von 10 Tagen nach dem Hirninfarktereignis an beiden unteren Extremitäten, die in 10 äquidistante Segmente eingeteilt waren, die Jod-125-Fibrinogen-Aktivitäts-profile als Funktion der Präcordialcounts ermittelt. Hierzu wurde bei jedem Patienten eine individuelle Eichung vorgenommen. Eine 125-Jod-Schilddrüsenblockade wurde durch Applikation von 30 Tropfen Irenat am Tag 1 und 3 x 5 Tropfen Irenat/die an den folgenden Tagen durchgeführt.
Bei jedem Patienten wurde eine ausführliche Anamnese hinsichtlich Risikofaktoren wie hoher Lipidspiegel, früher durchgemachte Thrombosen, absolute Arrhythmie, Hypertonus und Diabetes mellitus erhoben.
Ferner wurde wegen Transportproteininteraktionen der Gehalt an TBG (TBG = Thyreoid-Binding-Globulin), Serumalbumin sowie wegen Farbstoffinteraktionen be-züglich photometrischer Meßmethoden des AT-III-Gehaltes der Bilirubinwert der Plasmaproben ermittelt. Diese zusätzlichen Risikofaktoren waren in beiden Gruppen (HP versus HDHE) nahezu gleich verteilt. Die Fibrino-genaktivitätsmessungen wurden an zentripetal ausge-strichenen Beinen täglich zur gleichen Uhrzeit vorge-nommen.

Blutabnahmen von 10 ml Citratblut (Mischungsverhältnis 1:10) zur Durchführung der gerinnungsanalytischen Untersuchung wurden an den Tagen 1, 2, 3, 5, 7, 10 zwischen 8^{00} - 10^{00} Uhr durchgeführt. Die gewonnenen 10 ml Citratblut wurden mit 2500 U/min. bei Zimmertemperatur 20 min. zentrifugiert und das gewonnene Plasma in 0,7 ml Portionen in Eppendorfhütchen pipettiert und bei minus 70^{o}C eingefroren. Eine Aufbewahrung der Blutproben bei -70^{o}C wurde gewählt, da sich bei Vorversuchen (Methodenheuristik) ein Aktivitätsabfall des Fa-Xa-Inhibitors von (3,1 - 9,5) % nach 3 Monaten bei -20^{o} C eingefroren ermitteln ließ.

Um lipidunabhängige gerinnungsanalytische Bestimmungen durchführen zu können, wurden sämtliche tiefgefrorenen Plasmaproben Frigen vorbehandelt.
Bei jedem Patienten wurde eine physikalische Thromboseprophylaxe durchgeführt (Fischerverband an beiden unteren Extremitäten, passive Beingymnastik während der Phase der absoluten Bettlägrigkeit, sobald als möglich Gehtraining).

3.) Wirkungsnachweis

Täglich wurde mittels Umfangsmessung, Prüfung der Wadendruckschmerzhaftigkeit, Hautinspektion, Payr-Zeichen und Auskultationsbefund sowie Säure-Basen-Status auf die klinische Symptomatik einer Beinvenenthrombose resp. der Lungenemboliekomplikation geachtet. Eine Thrombose galt als gesichert, wenn der Isotopenscanner erhöhte up-take-Werte im Sinne der internationalen Thrombosekriterien des Radiojodfibrinogentests anzeigte (60, 61).

Danach gilt eine Thrombose als diagnostisch gesichert, wenn sich ein lokaler Anstieg des radioaktiven Fibrinogens von wenigstens 15 % und am folgenden Tag von wenigstens 20 % nachweisen läßt, verglichen mit jeweils:

a) benachbarter Meßpunkte,
b) dem Meßwert des vorhergehenden Tages,
c) dem korrespondierenden Meßpunkt des anderen Beines (43-48).

V. Statistische Methoden

Für die Auswertung der Ergebnisse wurden folgende statistische Verfahren angewandt:

1.) Vierfeller-Chiquadrat-Test

Mit diesem Test werden die Grundwahrscheinlichkeiten von Binominalverteilungen verglichen.

Die Nullhypothese lautet:
Der Prophylaxeerfolg ist unabhängig von der angewandten Therapie, d.h. die Heparin-behandelte Gruppe und die Heparin-Dihydergot-behandelte Gruppe stammen in bezug auf den Therapieeffekt aus einer gemeinsamen Grundgesamtheit.

Die Alternativhypothese lautet:
Die beiden Stichprobengruppen entstammen zwei verschiedenen Grundgesamtheiten, d.h. ein unterschiedlicher Therapieeffekt ist statistisch nachweisbar.

Als Signifikanzniveau wurde festgelegt:

$p < 0{,}005$ signifikant (= o)
$p < 0{,}001$ hochsignifikant (= oo)
das heißt, die Irrtumswahrscheinlichkeit ist kleiner als 5 % bzw. 1 %.

2.) Student-t-Test

Der t-Test für verbundene Stichproben dient zur Auswertung von Versuchen, bei denen Stichproben von Beobachtungspaaren anfallen, z.B. wenn bei jeweils denselben Patienten vor und nach einer Behandlung respektive eines Ereignisses Meßwerte erhoben werden. Voraussetzung für dieses statistische Modell ist die Annahme, daß die gefundenen Paardifferenzen d_i Realisationen von n unabhängigen Zufallsvariablen darstellen, die identisch normalverteilt sind.

3.) Produktmoment - Korrelationskoeffizient
(nach BRAVAIS und PEARSON)

Liegen für 2 Variablen meßbare Daten vor, dann ist der Grad ihres Zusammenhangs durch den Pearson-Bravaischen Korrelationskoeffizialien r beschrieben.
Dieser ist eine dimensionslose Größe und eine Maßzahl für die Straffheit eines linearen Zusammenhangs.
Der Wertbereich für r ist folgendermaßen definiert

$$(-1 < r < +1).$$

Ist r = 0, besteht kein linearer Zusammenhang.
Bei r = ca. -1 besteht ein umgekehrt proportionaler Zusammenhang.

4.) Der Bartlett-Test und der Scheffé-Test

Der Bartlett-Test dient zur Homogenitätsprüfung ob bei Varianzen von Grundgesamtheiten die ihnen zugeordneten Variablen voneinander unabhängig sind.

Der Scheffé-Test ist ein Testverfahren, das auf der Konstruktion von Konfidenzintervallen beruht und e i n e Wahrscheinlichkeit für den ganzen Versuch angibt. Die Stichproben brauchen beim Scheffé-Test n i c h t gleichen Umfang zu besitzen. Scheffé konnte zeigen, daß die Wahrscheinlichkeit $1-\alpha$ beträgt, daß alle denkbaren Kontraste durch eine Menge von Konfidenzintervallen überdeckt werden.
Dieser Test ist also geeignet bei Vorliegen unterschiedlicher Meßergebnisse, die sich auf 2 Gruppen zufällig aufteilen, den G r a d des Unterschieds der gewonnenen Werte bezogen auch auf ungleiche Stichprobenumfänge hinsichtlich der Trennschärfe zu beurteilen.
Angewandt auf die Ergebnisse des Fa-Xa-Inhibitortests der Methodenheuristik bedeutet dies:
Mit welchem Niveau Irrtumswahrscheinlichkeit unterscheiden sich die Mittelwerte der Fa-Xa-Inhibitor-Messung in der Gruppe der "Normalpersonen" ohne Pilleneinnahme von den Werten der "Normalpersonengruppe" mit Einnahme oraler Antikonzeptiva.

C. RESULTATE

I. Ergebnisse der Voruntersuchungen (Methodenheuristik)

Der Plasmapool bestand aus Proben von 60 "Normalpersonen" beiderlei Geschlechts, welche in der Anamnese unauffällig waren und unter keiner medikamentösen Dauertherapie standen (Altersverteilung zwischen 20 und 40 Jahren).

1.) Statistische Auswertung des Quant-AT-III-Tests

Der Plasmapool wurde in 2 Gruppen aufgeteilt:

Gruppe A: Plasmen von Patienten mit normalen Triglyceridwerten

Gruppe B: Patienten mit lipämischen Werten

Der Antithrombin-III-Gehalt wurde aus der Kalibrierungskurve mit der Fa-Xa-Standardeichkurve als Differenzaktivität abgelesen. Die Menge des inhibitierten AT-III-Gehaltes wird in % Aktivität sowie in IU-/ml angegeben.

Gruppe A:

$$Q_A = 93075 \text{ IU/ml}$$

$$X_{45} = 1861.5 = \underline{29.55} \text{ mg\% AT-III}$$

Standardabweichung $S_x 2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$

$$S_{45} = 93.11 \text{ IU/ml} = 1.47 \text{ mg\%}$$

Mittlerer Fehler $S_x = \frac{S_{45}}{n} = 0.22 \text{ mg\%}$

Gruppe B:

Lipämische Plasmen:

$\bar{x}$ = 2019.31 IU/ml = 32.05 mg%
S = 110.38 IU/ml = 1.75 mg%
S_x = 30.58 IU/ml = 0.49 mg%

2.) Statistische Auswertung des Rate-Assay's

Bei der Analyse der Meßergebnisse zeigten sich auch hier erhöhte Aktivitätswerte bei lipämischen Plasmen gegenüber den Aktivitätswerten von Plasmen ohne erhöhte Triglyceridwerte. Ferner ergab sich zufällig die Beobachtung, daß Plasmaproben von Probanden, die Antikonzeptiva einnahmen, eine erniedrigte Antithrombin-III-Fa-Xa-Komplex-Aktivität aufweisen. Deshalb wurde die Gruppe C gebildet.
Zur Beurteilung, ob die obige Beobachtung zufällig war, wurde der Bartlett-Test und der Scheffé-Test angewandt.

Einzelergebnisse der Methodenheuristik des Rate-Assay's
(nach Gruppen aufgeteilt)

Gruppe A (Normalpersonen nicht lipämisch, nicht Pille)
(n = 37)

1. N1 : = 90.78
2. N2 : = 102.35
3. N6 : = 97.01
4. N9 : = 113.03
5. N27: = 112.14
6. N26: = 104.58
7. N25: = 106.36
8. N29: = 97.90
9. N7 : = 99.50
10. N4 : = 102.35
11. N21: = 110.36
12. N12: = 99.24
13. N3 : = 102.35
14. N64: = 105.02
15. N50: = 102.35
16. N39: = 93.45
17. N14: = 100.13
18. N22: = 104.49
19. N57: = 86.33
20. N48: = 98.35
21. N36: = 100.75
22. N62: = 81.17
23. N51: = 93.01
24. N45: = 85.96
25. N46: = 97.90
26. N43: = 79.60
27. N31: = 102.00
28. N41: = 98.00
29. N60: = 75.75
30. N35: = 96.50
31. N58: = 85.00
32. N59: = 80.00
33. N44: = 93.00
34. N63: = 78.00
35. N40: = 90.40
36. N56: = 84.00
37. N54: = 98.80

Gruppe B (Normalpersonen mit lipämischem Plasma) (n=13)

38. N23: = 123.27
39. N18: = 123.71
40. N49: = 116.41
41. N33: = 122.46
42. N19: = 121.93
43. N05: = 118.73
44. N08: = 111.25
45. N38: = 117.93
46. N32: = 84.70
47. N37: = 109.00
48. N53: = 92.80
49. N53: = 98.10
50. N47: = 98.00

Gruppe C (Normalpersonen mit Pille) (n=10)

51. N10: = 78.09
52. N13: = 79.66
53. N15: = 74.76
54. N11: = 70.25
55. N16: = 78.68
56. N61: = 81.88
57. N42: = 55.00
58. N55: = 73.50
59. N30: = 71.00
60. N64: = 68.50

Nach dem Bartlett-Test ergibt sich ein p = 22374, d.h. die Homogenität der Varianzen ist mit 22.37 % hinreichend über dem 5 %-Niveau Irrtumswahrscheinlichkeit.

Zur Fragestellung, wie groß die Mittelwertdifferenzen der Gruppen A, B, C sind, d.h. wie spezifisch signifikant der ermittelte Meßwertunterschied ist, wird der Scheffé-Test angewandt.

Vergleich Gruppe B versus C:

Für eine 1 %ige Irrtumswahrscheinlichkeit
beträgt die geforderte Mittelwertsdifferenz größer 13.642

Für eine 5 %ige Irrtumswahrscheinlichkeit
beträgt die geforderte Mittelwertsdifferenz größer 10.845

Die ermittelte Mittelwertsdifferenz der
Gruppe B und C beträgt: 37.506

d.h. es besteht ein hochsignifikanter Unterschied.

Vergleich Gruppe A und B:

Für 5%ige Irrtumswahrscheinlichkeit
Schwellenwert: 8.313

Für 1%ige Irrtumswahrscheinlichkeit
Schwellenwert: 10.457

Gefundene Prüfgröße 14.748

d.h. die gefundenen Einzelwerte der beiden Gruppen unterscheiden sich signifikant.

Vergleich Gruppe A und C:

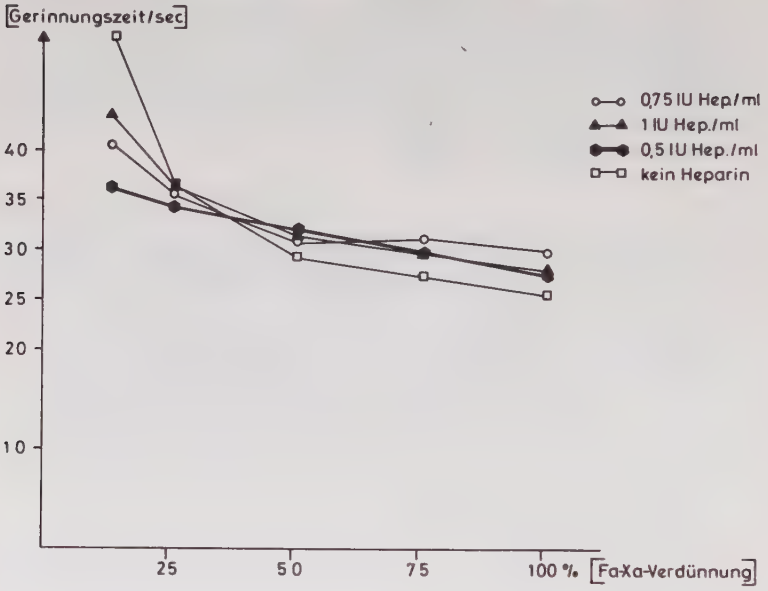
Schwellenwert 1%-Niveau: 11.560
Schwellenwert 5%-Niveau: 9.190
erhaltene Prüfgröße: 22.757

daraus folgt ein hochsignifikanter Unterschied.

Zusammenfassend erbrachte der Rate-Assay also eine deutlich erniedrigte Fa-Xa-Inhibitoraktivität bei Personen, die Antikonzeptiva einnehmen verglichen mit der Anti-Xa-Aktivität bei "Normalpersonen" ohne Einnahme oraler Oestrogenpräparate.
Die Anti-Xa-Werte bei Probanden mit hohem Blutfettgehalt waren verglichen mit Werten nichtlipämischer Plasmen deutlich erhöht.

3.) Zum Auffinden einer geeigneten Heparinkonzentration sowie günstiger Inkubationszeiten wurden Testansätze mit der in der Abb. 7 dargestellten variierenden Heparindosis durchgeführt. Eine Zugabe von 0,4 oder 0,5 Units Heparin ergab dabei im gewünschten Faktor -Xa- Verdünnungsbereich einen nahezu linearen Funktionsverlauf. Es zeigt sich auch, daß die Anti-Xa-Aktivitätsmessung in geeigneten Kunststoffröhrchen durchgeführt werden muß, da Aktivitätsabweichungen, die schon R. BIGGS beobachtete (77), durch unterschiedliche Adsorption an Glaswänden zustande kommen.

Abb.7: Die Relation zwischen Anti-Xa-Aktivität und Heparin



II. Ergebnisse der Apoplexie-Studie

1.) Klinische Ergebnisse

Von den 32 Patienten, die in die randomisierte Doppelblind-Studie aufgenommen waren, konnten die Untersuchungsergebnisse von 29 Patienten ausgewertet werden. Zwei Patienten verstarben frühzeitig; bei 1 Patienten konnte wegen ungenügender Compliance keine valide Auswertung erfolgen. Bei 28 Patienten waren Symptome wie spastische Hemiparese, Facialisparese, sensorische Aphasie und Sehstörung in unterschiedlicher Ausprägung aufgetreten. Bei einem Patienten waren keine neurologischen Ausfallserscheinungen aufgefallen.

a) Von den 29 Patienten konnten nur bei 2 Patienten die klinischen Zeichen (Überwärmung, Rötung, Hohmann-Zeichen, Payr-Zeichen, Umfangsvergrößerung) einer tiefen Beinvenenthrombose gefunden werden.
Bei Pat. Nr. 11 zeigte sich ab dem 2./3. Tag eine Umfangsvergrößerung des linken Unterschenkels um 1,6 cm und eine Druckschmerzhaftigkeit der linken Wade.
Bei Pat. Nr. 2 zeigte sich ab dem 3. Tag eine Überwärmung des linken Unterschenkels und eine geringe Druckschmerzhaftigkeit bei Kompression der Plantarmuskulatursehne.

b) Computertomographisch konnte bei 7 Patienten ein ischämischer Insult, bei einem Patienten ein hämorrhagischer Insult festgestellt werden.
(Die Zahlen beziehen sich auf die Gruppe der Patienten mit radiopositiven Thrombosen.)
(Bei einem Patienten aus der Gruppe der Patienten mit Thrombosen wurde kein Schädel-CT angefertigt.)

c) In den beiden Thromboseprophylaxegruppen HP-Gruppe; n=15; (3x5000 IE Heparin s.c.) und HDHE-Gruppe; n=14; (3x(2500 IE Heparin ⊕ 0,5 mg Dihydroergotamin) verteilte sich die Thromboseinzidenz - gesichert durch den Jod-125-Fibrinogentest - wie folgt:

HP-Gruppe: = 9 tiefe Beinvenenthrombosen
HDHE-Gruppe: = 4 tiefe Beinvenenthrombosen

Dieser Unterschied ist n. d. Chiquadratattest mit 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit statistisch signifikant.

Risikofaktoren, die das Entstehen einer tiefen Beinvenenthrombose begünstigen, wie absolute Arrhythmie, Aneurysmen, Adipositas (Hyperlipidämie), Hypertonus und Varikosis waren in beiden Gruppen nahezu gleich verteilt. Einzelheiten siehe nachfolgende Liste:

Liste der Risikofaktoren:

	HP-Gruppe	HDHE-Gruppe	Gesamt
Hypertonus	10	8	18
Herzrhythmusstörungen	8	4	12
Arteriosklerose	6	6	12
Herzinsuffizienz	8	4	12
Varikosis	5	5	10
Diabetes	4	4	8
Adipositas	5	3	8
Hyperlipidämie	1	4	5
Nikotinabusus	2	1	3
Hyperurikämie	1	1	2
Thrombophlebitis in der Anamnese	1	0	1
Infarkte in der Anamnese	1	0	1
Periphere Ödeme	1	0	1

Außerdem waren die außerhalb des Bettes verbrachten Stunden ab dem 2./3. Postinfarkttag mit durchschnittlich 1-1,5 Std. in der HDHE-Gruppe und durchschnittlich 1,5-3 Std./die in der HP-Gruppe unwesentlich verschieden.

2.) Auswertung der Laborergebnisse:

(statistische Methoden siehe S.35)

Zur Meßdatenauswertung wurden die einzelnen untersuchten Merkmale wie folgt zugeordnet:

Pathromtin	: = Merkmal	1
Cephaloplastin	: = "	2
AT-III-Bestim. mittels Amidolytik	: = "	3
Fa-Xa-RATE-Assay	: = "	4
AT-III-Partigen-methode	: = "	5
AT-III-Quant-Assay	: = "	6
Heparin	: = "	7

a) Für die PTT-Messungen ergaben sich an den Blutabnahmetagen Tg 1 (vor Prophylaxe-Gabe), Tg 2, Tg 3, Tg 5, Tg 7, Tg. 10 folgende Korrelation der angewandten Methoden:

Merkmal 1 versus 2 in der HP-Gruppe (n=15):

Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
r=0,917	r=0,910	r=0,853	r=0,903	r=0,944	r=0,925

Die obigen Korrelationswerte zeigen an den verschiedenen Untersuchungstagen eine sehr gute Übereinstimmung der beiden Untersuchungsmöglichkeiten der PTT in der HP-Gruppe.

PTT: Cephaloplastin 2 versus Pathromtin 1 in der Gruppe HDHE: (n = 14)

Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
r=0,881	r=0,730	r=0,832	r=0,998	r=0,909	r=0,776

Auch in dieser Gruppe zeigten die beiden unterschiedlichen Meßmethoden eine gute Übereinstimmung.

b) Die AT-III-Aktivität, gemessen mit der amidolytischen Methode ergab bei beiden Gruppen einen muldenförmigen Verlauf.
Die Abb. 8 (s.S.48) veranschaulicht an Hand der Mittelwerte der amidolytisch gewonnenen AT-III-Werte bezogen auf die jeweiligen Untersuchungstage den AT-III-Aktivitätsverlauf der Gruppe HP und HDHE.
In beiden Gruppen zeigt sich nach dem 2. Tg. bis zum 7. Tg. ein deutlicher Aktivitätsabfall des physiologisch wirksamen AT-III-Gehaltes. In der Heparin-Prophylaxe-Gruppe ist dieser Abfall am 5. Tg. am deutlichsten ausgeprägt.

Zwischen dem Heparingehalt und dem AT-III-Gehalt (amidolytisch gemessen) ergab sich folgender Zusammenhang: (Merkmal 3 versus Merkmal 7)

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:	r=0,154	0,408	0,334	0,508	0,228	0,497
HDHE-Gruppe:	r=0,699	0,812	0,769	0,441	0,328	0,236

Die obigen Korrelationswerte zeigen, daß in der Heparingruppe kein Zusammenhang zwischen der AT-III-Aktivität (amidolytisch) und den im Plasma vorhandenen Heparinspuren besteht.

In der HDHE-Gruppe zeigt sich bis zum 3. Tg. eine relativ gute Korrelation der AT-III-Werte und dem Gehalt des im Plasma vorhandenen Heparins.
Ab Tag 5 ergibt sich keine Korrelation mehr.

AT-III (amidolytisch gemessen) versus
Quantitativ gemessenem AT-III (Merkmal 3 versus 6)

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe: r =	0,660	0,549	0,737	0,748	0,621	0,869
HDHE-Gruppe: r =	0,792	0,767	0,718	0,820	0,854	0,756

In der HP-Gruppe ergab sich zwischen AT-III amidolytisch und AT-III-Quant.-Assay außer am Tg. 3, Tg. 5, Tg. 10 eine geringe Korrelation.
An den Tg. 3, 5, 10 ergaben sich gute Testübereinstimmungen.

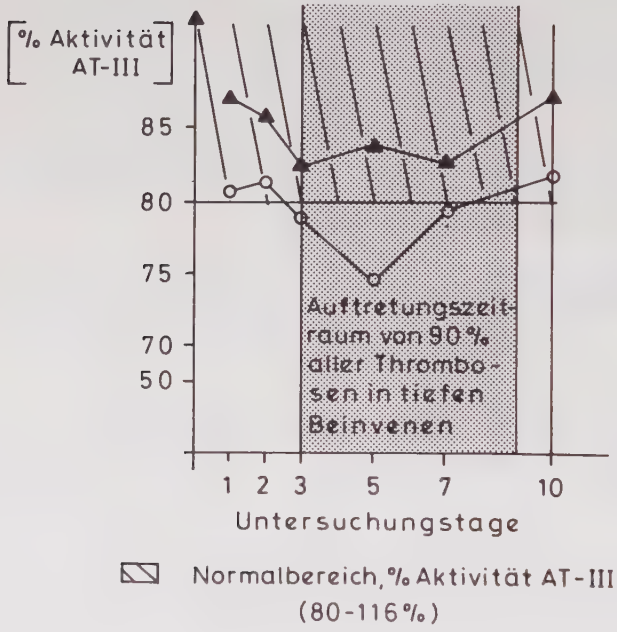
In der HDHE-Gruppe ergab sich an allen Tagen eine gute Übereinstimmung der gefundenen Meßwerte.

AT-III amidolytisch und PTT:

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe: r =	0,740	0,042	0,794	0,661	0,351	0,540
HDHE-Gruppe: r =	0,025	0,701	0,371	0,604	0,564	0,176

Zusammenfassend ist die amidolytische AT-III-Bestimmung eine gut praktikable funktionelle AT-Bestimmungsmethode, bei der das Testergebnis schnell und hinreichend zuverläßlich vorliegt. Die AT-III-Aktivitätsprofile (Mittelwerte) bezogen auf die einzelnen Untersuchungstage zeigt die Abb. 8, S. 48).

Abb. 8: Mittelwerte der Amidolytischen AT-III-Bestimmung



c) Quant.-AT-III-Assay:

1.) Korrelation Quant AT-III versus Heparin
(Merkmal 6 versus Merkmal 7)

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:						
	r = 0,273	0,638	0,408	0,517	0,202	0,468
HDHE-Gruppe:						
	r = 0,621	0,710	0,671	0,301	0,218	0,202

In der HP-Gruppe ergibt sich zwischen den AT-III-Werten (gemessen mit dem Quant-AT-III-Assay) nur an Tg. 2 und Tg. 5 eine geringe Korrelation.

In der HDHE-Gruppe ergibt sich bis einschließlich Tg. 3 eine relativ gute Korrelation zwischen Quant.-AT-III und Heparin. Diese Korrelation bezieht sich nicht auf den durch den Test erfaßten Heparingehalt, sondern auf die Möglichkeit eines Zusammehanges zwischen dem Absinken des AT-III-Gehaltes und der systemischen Heparinmenge.
Der quantitative AT-III-Test selbst ist heparinunabhängig.

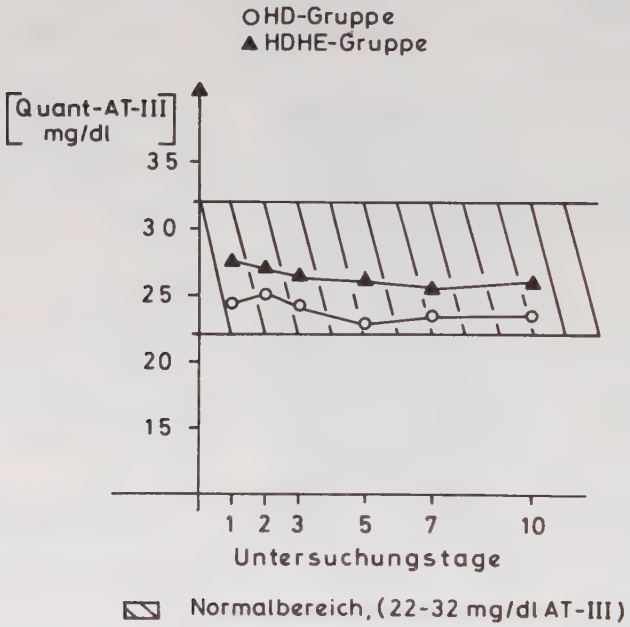
Den Verlauf der Mittelwerte des Quant. AT-III an den verschiedenen Untersuchungstagen zeigt die Abb. 9 (s.S. 50).

Merkmal 5 versus Merkmal 6

2.) Quant-AT-III versus Partigen-Platte
(immunolog. AT-III-Bestimmung)

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:						
	r = 0,827	0,737	0,838	0,734	0,784	0,778
HDHE-Gruppe:						
	r = 0,856	0,845	0,850	0,879	0,945	0,880

Abb.9: Mittelwerte des Quant-AT-III



In beiden Gruppen zeigte sich eine gute Korrelation der beiden Testverfahren zur Bestimmung der AT-III-Aktivität; d.h., daß bei den gegebenen Voraussetzungen (nicht lipämische, nicht hämolytische Plasmen und nicht erhöhte Thyreoglobulinwerte) die immunologische (Partigen^{R}) und funktionelle (AT-III-Quant.-Methode) eine gute Übereinstimmung der AT-III-Aktivität zeigt.
Anzumerken ist, daß in der HDHE-Gruppe die Korrelationskoeffizienten zwischen r = 0.845 und r = 0.945,während in der HP-Gruppe die Korrelationskoeffizienten zwischen r = 0.734 und r = 0.838 schwanken.

3.) Quant. AT-III (Merkmal 5 versus PTT (Merkmal 1)

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:						
r =	-0.685	+0.151	-0.523	-0.312	-0.329	-0.366
HDHE-Gruppe:						
r =	-0.119	-0.662	-0.600	-0.415	-0.475	+0.367

In der Heparingruppe fand sich am Tg. 1 und Tg. 3 ein geringgradig umgekehrt proportionaler Zusammenhang zwischen den AT-III-Aktivitäten und der Partiellen Thromboplastin-Zeit (PTT).

In der HDHE-Gruppe zeigte sich am Tg. 1 und Tg. 2, also an den beiden ersten Tagen der Prophylaxedurchführung ein geringgradiger umgekehrt proportionaler Zusammenhang zwischen PTT- und AT-III-Aktivität.

4.) Quant.-AT-III versus RATE bei "radiopositiven Pat."
Gruppe HP: = r = 0.339 Gruppe HDHE: r = 0.832

d) RATE-Assay

1.) RATE (Merkmal 4 versus Heparin (Merkmal 7)

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:						
r =	-0.046	+0.385	+0.174	+0.634	+0.770	+0.780
HDHE-Gruppe:						
r =	-0.037	+0.567	-0.012	+0.764	+0.469	+0.616

2.) Abbildung 10 zeigt den Verlauf der Mittelwerte der Anti-Xa-AT-III-Komplex-Aktivitäten, bezogen auf Tg. 1,2,3,5,7,10 der durchgeführten Studie.

Die Abbildung zeigt, daß die Mittelwerte der HDHE-Gruppe außer an Tg. 1 (ohne Heparin) deutlich erniedrigt sind gegenüber den Mittelwerten der HP-Gruppe.
An Tg. 5, an dem sich eine gute Korrelation zwischen Anti-Xa-Wert und Heparingehalt ergab, zeigt sich auch ein Maximum der Mittelwerte des RATE-Assay's in der HDHE-Gruppe.
An Tg. 7 ergab sich in der HDHE-Gruppe ein deutlicher Aktivitätsabfall der Anti-Xa-Aktivität gegenüber Tg. 2,3,5. Von den 4 in der HDHE-Gruppe aufgetretenen Thrombosen wurde mittels des Radio-Jod-Fibrinogentests in 3 Fällen ein Aktivitätsmaximum am 7. Tg. festgestellt.

Bei Pat. Nr. 21 zeigten sich ab Tg. 4 und 5 erhöhte uptake-Werte, bei Pat.Nr. 7 und 4 am 7. Tg.
Beim Pat. Nr. 2 war die Anti-Xa-Aktivität am Tg. 2, an dem der Radio-Jod-Fibrinogentest erhöhte uptake-Werte erbrachte, deutlich erniedrigt.

Der RATE-Assay ermittelte in beiden Gruppen an den Tagen, an denen Thrombosen aufgespürt wurden, deutlich erniedrigte Aktivitätswerte:

1. verglichen mit dem Vortag
2. verglichen mit dem durch Heparin-beeinflußten Aktivitätsgrad
   (genaue Zusammenstellung siehe Anhang Nr.1-10).

Vergleicht man nur die Patienten, bei denen eine radiopositive Thrombose aufgespürt wurde, so ergibt sich in der HP-Gruppe eine Korrelation zwischen Heparin und Anti-Xa-Aktivität mit r=0.110 und in der HDHE-Gruppe jedoch mit r=-0.665. D.h.: In der HDHE-Gruppe, in der 4 "radiopositive" TVT auftraten, erbrachte der Rate-Assay an den Tagen mit TVT eine Fa-Xa-Inhibitoraktivitätsänderung umgekehrt proportional zum systemischen Heparingehalt. In der HP-Gruppe ist eine derartige Bewertung wegen zu großer Heparinschwankungen nur durch Vergleich von Heparingehalt und Fa-Xa-Inhibitor-Aktivität von Tag zu Tag und nicht durch Mittelwertvergleich möglich.

3.) RATE versus PTT

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:						
r =	-0.567	-0.174	0.142	0.367	0.450	0.304
HDHE-Gruppe:						
r =	0.198	-0.563	-0.145	0.792	-0.264	0.187

Außer am Tg. 5 in der HDHE-Gruppe ergab sich kein linearer Zusammenhang zwischen der PTT- und der Anti-Xa-Aktivität.

4.) Signifikanzvergleich des RATE-Assay's (Merkmal 4) mit der Partigenmethode (Merkmal 5) und Amidolytik (Merkmal 3) (t-Test)

Bei allen Patienten der HP-Gruppe ergab sich unabhängig vom Untersuchungstag folgende Auswertung:
Merkmal 4 versus 3 in der HP-Gruppe

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:						
p =	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

d.h. hochsignifikant im 1%-Niveau Irrtumswahrscheinlichkeit (o o)

In der HDHE-Gruppe ergibt sich jedoch kein Zusammenhang. Bei den "radiopositiven" Thrombosen korreliert der RATE-Assay in der HP-Gruppe mit der Amidolytik (Merkmal 3), mit der Partigenmethode (Merkmal 5), mit dem Quant. AT-III-Test (Merkmal 6) und dem Heparingehalt (Merkmal 7) wie folgt:

	Amidolytik	Partigen	Quant-AT-III	Heparin-gehalt
RATE-versus				
r =	0.200	0.184	0.339	0.457

d.h. kein Zusammenhang

RATE versus Merkmal 3,5,6,7 in der "Jodfibrinogenpos.-Gruppe" der HDHE-Prophylaxe-Gruppe:

	Amidolytik	Partigen	Quant-AT-III	Heparin
RATE versus				
r =	0.961	0.979	0.832	0.950

d.h. bei allen Patienten mit radiopositiver Thrombose besteht in der HDHE-Gruppe ein sehr guter linearer Zusammenhang der untersuchten Meßdaten.

Wendet man den Test für Paardifferenzen abhängiger Stichproben pro Merkmal Tag gegen Tag an, ergeben sich bei den Analysedaten der Markmale 1,2,3,5,6,7 keine auffälligen Signifikanzen.
Bei dem Merkmal 4 (RATE-Assay) ergeben sich folgende Signifikanzen in der HP-Gruppe:

Merkm. 4	Tg.	gegen	Tg.	Irrtumswahrscheinl.
	1	---------→	2	p = 0.001
	1	---------→	3	p = 0.000
	1	---------→	5	p = 0.001
	1	---------→	7	p = 0.001
	1	---------→	10	p = 0.000

d.h. in dieser Gruppe ergeben sich an allen Untersuchungstagen verglichen mit dem Tg. 1 hoch signifikant verschiedene Fa-Xa-Inhibitorwerte.

In der HDHE-Gruppe ergeben sich jedoch mit Signifikanz zwischen p = 0.017 und p = 0.739 keine Zusammenhänge. D.h. von allen durchgeführten laborchemischen Untersuchungen ergaben sich mittels des RATE-Assays in der HE-Gruppe deutliche Unterschiede der Anti-Xa-Aktivität aller Tage bezogen auf den 1. Tag. In dieser Gruppe fanden sich 9 radiopositive Thrombosen!
In der HDHE-Gruppe (4 radiopositive Thrombosen) ergab sich kein Unterschied, wohl aber in der HP-Gruppe.

e) Heparin:

In der HDHE-Gruppe waren die durchschnittlichen Meßwerte am Tag 1 deutlich höher als in der HP-Gruppe. Während des weiteren Beobachtungszeitraumes fiel der Heparinspiegel der HDHE-Gruppe deutlich ab, während der Heparinspiegel der HP-Gruppe anstieg. Bei 12 Patienten konnte kein systemisch vorhandenes Heparin nachgewiesen werden.

Diese sind als Therapieversager anzusehen.

Aufteilung der Therapieversager auf HP- und HDHE-Gruppe:
ohne meßbaren HP-Spiegel

	(absolut)	(relativ)	95 % Konfidenzintervall
HP-Gruppe	9	60 %	32,2 - 83,7 %
HDHE-Gruppe	3	23 %	5,0 - 33,8 %

Beurteilung: Bei der HDHE-Gruppe gibt es signifikant weniger Therapieversager.

Heparinspiegel im zeitlichen Verlauf:

	Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:						
x: =	0.011	0.031	0.033	0.041	0.024	0.048
s: =	0.02	0.04	0.04	0.06	0.05	0.06
HDHE-Gruppe:						
x: =	0.032	0.034	0.032	0.089	0.027	0.040
s: =	0.04	0.04	0.03	0.019	0.03	0.02
HP-Gruppe + HDHE-Gruppe:						
x: =	0.022	0.033	0.033	0.065	0.025	0.044
s: =	0.03	0.04	0.03	0.13	0.05	0.05

Ab Tag 5 bis 10 ist der Heparinspiegel der HP-Gruppe signifikant höher als bei der HDHE-Gruppe ($p < 0.05$).

In der Gruppe der radiopositiven Thrombosen ergibt sich zwischen Heparingehalt und PTT ein Korrelationskoeffizient von $r = -0.198$ - d.h. es besteht kein linearer Zusammenhang (bezogen auf die HP-Gruppe).

Heparin versus PTT in der HDHE-Gruppe ergibt

$$\underline{r = -0.847}$$

d.h. in dieser Gruppe sind Thrombosen genau dann aufgetreten, wenn bei niedriger PTT trotzdem ein relativ hoher Heparingehalt vorhanden war oder umgekehrt.

f) Intermethodische Korrelation:

Bei der radiopositiven Thrombosegruppe zeigte sich folgender Zusammenhang:

f.1.) PTT (Merkmal 1 versus Amidolytik (Merkmal 3)
HP-Gruppe: = r = -0.717
HDHE-Gruppe: = r = 0.821
(HP-HDHE)-Gruppe: r = -0.665
d.h.: In beiden Prophylaxegruppen ergab sich ein umgekehrt proportionaler Zusammenhang.

f.2.) Amidolytik (Merkmal 3 versus RATE (Merkmal 4)
HP-Gruppe : r = 0.200
HDHE-Gruppe: : $\underline{r = 0.961}$
HP-+HDHE-Gruppe : r = 0.400

f.3.) RATE-Assay (Merkmal 4 versus Quant AT-III (Merkm. 6)
HP-Gruppe : r = 0.339
HDHE-Gruppe : $\underline{r = 0.947}$
HP-+HDHE-Gruppe : r = 0.605

f.4.) Amidolytik 3 versus Partigen 5
HP-Gruppe : r = 0.886
HDHE-Gruppe : r = 0.979
HP+HDHE-Gruppe : r = 0.863

D.h. die beiden Testmethoden zur Bestimmung der AT-III-Aktivität zeigen in beiden Gruppen eine gute Übereinstimmung.

f.5.) Partigen 5 v. Quant. AT-III 6

HP-Gruppe : r = 0.671

HDHE-Gruppe : r = 0.918

HP-+HDHE-Gruppe: r = 0.853

D.h. in der Dihydergot-Gruppe ist die Empfindlichkeit beider Methoden gleich einzuordnen.

In der HP-Gruppe ergibt sich eine geringere Übereinstimmung (siehe auch Abb. 9).

Der Quant-AT-III-Assay scheint beim Erfassen der funktionell aktiven AT-III-Aktivität wegen geringerer Störgrößenabhängigkeit (TBG, Fettgehalt, inaktives AT-III) etwas empfindlicher zu sein, Veränderungen im gerinnungsaktiven Blutkreislauf zu erfassen.

Thromboserate im hemiplegischen Bein:

	hemipl.	nicht hemipl.	Gesamtzahl
HP-Gruppe:	5	2	7
HDHE-Gruppe:	3	1	4
Gesamt	8	3	11

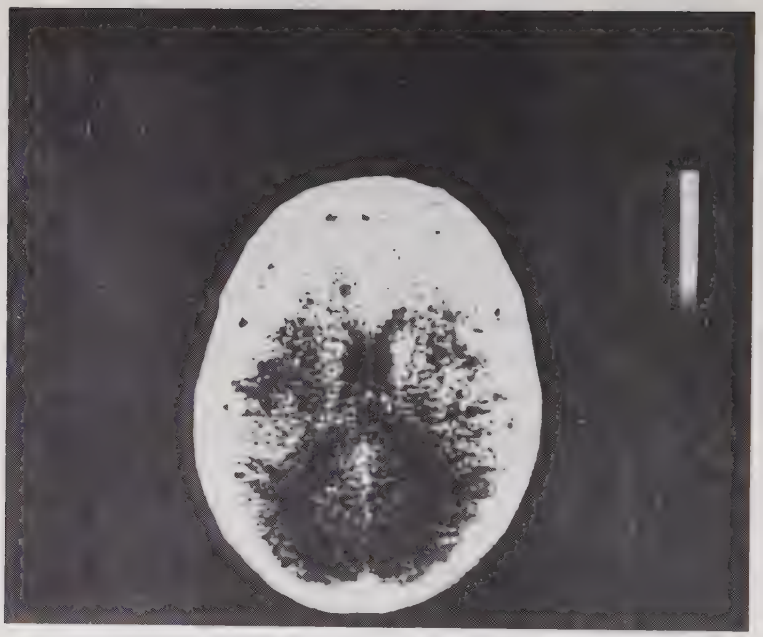
Bei zwei Patienten konnte keine motorische Halbseitensymptomatik festgestellt werden.

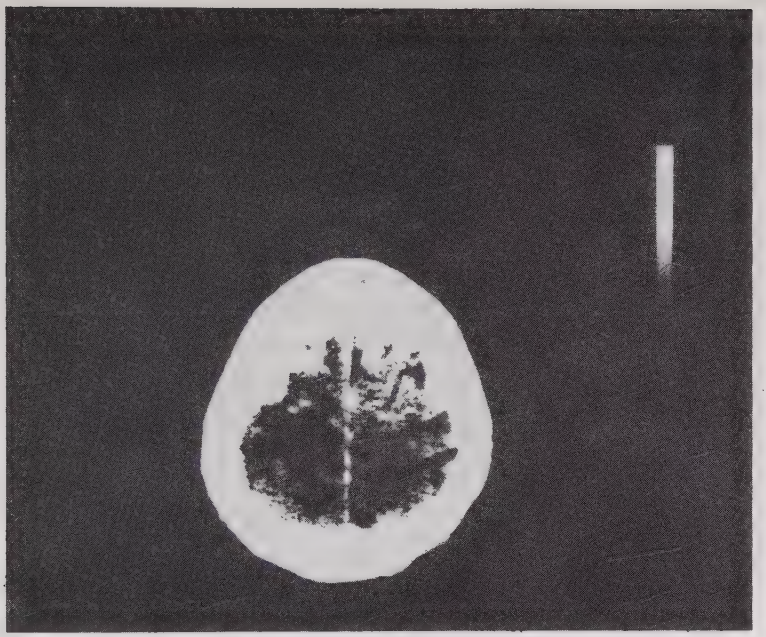
3.) Typisches Verlaufsprotokoll (aufgezeigt an einer beispielhaften Kasuistik)

Fallbeschreibung:

70-jährige Pat. in ordentlichem EZ.
Als Risikofaktoren bestanden eine leichte Varikosis beider Beine, geringgradige periphere Ödeme, ein Hypertonus von 190/105 mm Hg, absolute Arrhythmie bei relativer Mitralinsuffizienz sowie eine Hyperlipidämie. Aus der Familienanamnese ist erwähnenswert, daß die Mutter ebenfalls an einem apoplektischen Insult erkrankte.

Bei der Aufnahme zeigten sich erschwerte Arm- und Beinbewegungen rechts sowie Einschränkung der Blick-und Kopfbewegung nach rechts. Im Vordergrund stand eine Hemiparese rechts mit rechtsseitig verminderter Sensibilität. Fremd- und Eigenreflexe rechts schwächer als links auslösbar. Babinski rechts positiv.
Die Laborwerte waren bei der Aufnahme unauffällig.
Am 2. Tag nach Klinikeinweisung erlitt die Pat. einen Jackson-Anfall.
Der Radio-Jod-Fibrinogen-Test zeigte bereits am 2. Tag beim Meßpunkt 4/5 ein erhöhtes Aktivitätsprofil. Diese Werte erreichten am 4./5. Tag ein Maximum, so daß im Bereich der Vena poplitea eine TVT diagnostiziert wurde. Klinische Zeichen einer tiefen Thrombose konnten nicht gefunden werden. Zeichen einer Lungenembolie sind nicht aufgetreten.
Bei dieser Pat. wurde eine Thromboseprophylaxe mit 3 x 2500 IE HP + 0,5 mg Dihydergot durchgeführt.
Der Computer-tomographische Befund erbrachte einen relativ frischen ischämischen Insult im Bereich des Endausbreitungsgebietes mehrerer parietaler Mediaäste links mit kleiner sekundärer Einblutung, die sich als geringgradig raumfordernder Prozeß manifestierte.
(siehe folgende Abbildungen).





STUDIENPROTOKOLL

Patient Identification: Z.G. Patient Nr.: 021

Radio-Fibrinogen Uptake Test

Day

2 Preop day	O	5.
1 Preop day	O	6.
OP. 1 st	O	7.
2 nd	O	8.
3 rd	O	9
4 th	O	10
5 th	⊗	11
6 th	O	12
7 th	O	13
8 th	O	14
9 th	O	15
10 th	O	16
11 th	O	17
12 th	O	18
13 th	O	19

28.2 Monitor Scale
28.3 Thyr. count 220
28.4 Heart count 258

%	right leg 28.20.29.	MP			MP	left leg 28.30.39.	%
	23,9	10	x	x	10	25,3	
	22,7	9	x	x	9	27,4	
	24,5	8	x	x	8	24,3	
	22,3	7	x	x	7	22,1	
	26,9	6	x	x	6	21,8	
	69,3	5	x	x	5	18,1	
	23,7	4	x	x	4	21,3	
	25,0	3	x	x	3	21,0	
	22,0	2	x	x	2	22,1	
	29,1	1	x	x	1	26,0	
%	counts	MP			MP	counts	%

Early cognition or thrombosis (in comparsion to the day) before possibility to introduce a treatment

yes 1 ○ no 2 ○

	Sign of thrombosis	
29.2 TIGH	⊗ 2	○ 1
29.3 KNEE	⊗ 2	○ 1
29.4 CALF	⊗ 2	○ 1

Daily clinical signs - Report

30.1 Systolic Blood pressure 190
30.2 Diastolic Blood pressure 105
30.3 Pulse/min 84
30.4 Respiration/min 27
30.5 Body Temperature (°C) 38,0 am. pm.

Pulmonary Embolism yes ○ no ⊗

Risikofaktoren:

		ja	nein
1. Diabetes		⊗	○
2. Arteriosklerose		○	⊗
3. Varicosis, Ulcus cruris		⊗	○
4. Adipositas (vergl. mit Idealgewicht)		⊗	○
5. Hyperlipidämie		⊗	○
6. Hypertonie		⊗	○
7. Kontrazeptiva		○	⊗
8. Herz: Rhythmusstörungen	absolute Arrhythmie	⊗	○
Herzinsuffizienz		⊗	○
Herzvitium	rel. Mitralinsuffizienz	⊗	○

Weitere Informationen:

1. Raucher
2. Alkoholiker
3. arterielle Erankungen ⊘
   ⊘
4. periphere Oedeme
5. Familienanamnese auf thromboembolische Erkrankungen: Mutter an apoplektischen Insult und diabetischer Stoffwechselstörung erkrankt

Besonderheiten:

1. Befundbeschreibung: auskultatorisch rauhes Syst. P.M. üb. Erb., schlaffe Lähmung re., Sensibilität re. vermindert

THERAPEUTISCHE MASSNAHMEN

Therapie:

1. medikamentöse Therapie: Rheomacrodexinfusion
   Lanitop, Briserin
   Thrombose-Prophylaxe-Präparat

2. physikalische Therapie:

	ja	nein
1. Hochlagerung:	⊗ 1	○ 2
2. Beinwickeln :	⊗ 1	○ 2
3. Gymnastik :	⊗ 1	○ 2

SPEZIALPROTOKOLL: APOPLEXIE

1. Klinische Zeichen: keine Rötung, keine Schwellung
   Muskeltonus: normal
   Reflexe : li > re, Babinski, re. positiv
   Paresen
2. Verlauf der klinischen Zeichen: am 2. Tag Jackson-Anfall: Arm-Bein, Blick- und Kopfdrehen eingeschränkt
   Phonationsschwierigkeiten
3. Lumbalpunktion : ⌀
4. Computertomographie: rel. frischer ischämischer Insult im Bereich des Endausbreitungsgebietes mehrer parietaler Mediaäste mit kleiner sekundärer Einblutung; raumfordernder Prozeß
5. Früherer Apoplex :

ja	nein
○	⊗

VERLAUFSDIAGNOSTIK

	Aufnahmetag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag	13. Tag	14. Tag
Blutentnahme	x	x	x	x		x		x			x				
Hämatokrit	41,5			44,5	43,1		43,7			45,4	43,1				
Temperatur	382	7,2	7,2	6,5	7,0	7,2	8,2	7,0	8,6	7,7	7,7				
Schwellung	Ø	Ø	Ø	Ø	–	–	–	–	–	–	Ø				
rötl./bläul. Verfärbung	Ø	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Ø				
Spannung/Druckdolenz	Ø	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Ø				
Hohmann-Zeichen	Ø	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Ø				
Payr-Zeichen	Ø	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Ø				
Plötzlicher Thoraxschmerz	Ø	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Ø				
Kollapsneigung	Ø	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Ø				
Hämolysis	Ø	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Ø				
Bettruhe	0	0	0	0	2	1	1,5	2	3	2	2				
(Anzahl der Stunden, die außerhalb des Bettes verbracht)															

Beinumfangsmessungen: (am Tg. 4 u. 5)

re. bei Pkt. 2: 21,5 cm
Pkt. 5: 36,0 "
Pkt. 9: 50,0 "

li bei Pkt. 2: 208 "
Pkt. 5: 35,0 "
Pkt. 9: 48,5 "

ALLGEMEINE ANAMNESE

Patienten-Daten:

1. Initialen [Z.G.]
2. Geschlecht: 1. männlich 2. weiblich
3. Alter [8,4,3] Monate ≙ 70 Jahre
4. Größe: [1,6,4] cm 5. Gewicht: [6,3,5] kg

Anamnese thromboembolischer Erkrankungen:				ja	nein
1. Thrombophlebitis	vor	[ ]	Jahren	○	⊗
2. Phlebothrombose	: vor	[ ]	"	○	⊗
3. Varizen (status präsens)	vor	[ ]	"	⊗	○
4. Embolie	: vor	[ ]	"	○	⊗
5. Herzinfarkt	: vor	[0,5]	"	⊗	○
6. sonstige	:	[ ]	"	○	⊗

KONTRAINDIKATIONEN FÜR AUFNAHME IN DIE STUDIE

Gravidität
Gefäßplastik
Sympathektomie
Beinverletzungen

Ø

Weitere wichtige Befunde der obigen Patientin:

Laborwerte:

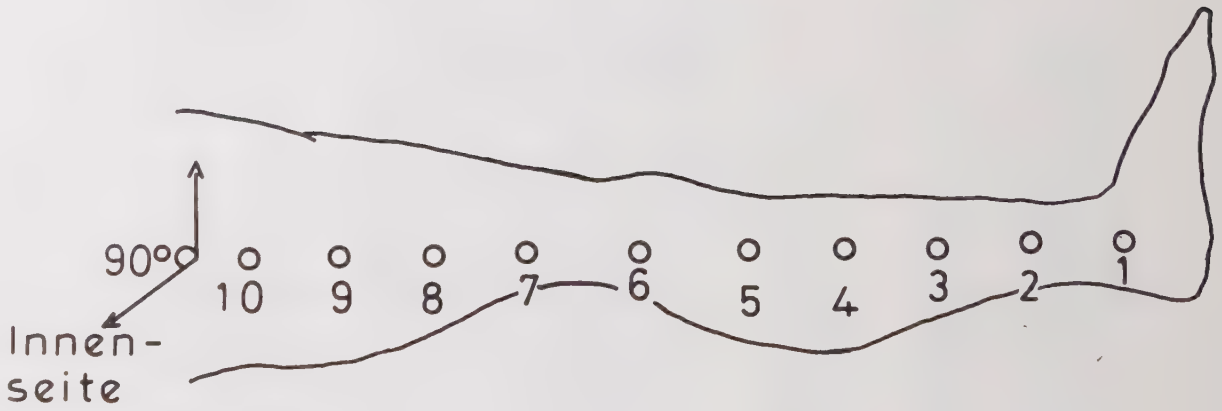
Hb 14,6 g/dl, Hk 39,8 %, Erythrozyten 4,55 Mill./µl, Leukozyten 4100/µl. Quick 100 %. Thrombozyten 185000/µl. PTT 22 sec. Kreatinin 0,9 mg/dl. Bilirubin 1,0 mg/dl. Thyroxin 6 µg/dl, Index freies T_4 5,9 ng/dl, PBJ 9,3 µg/dl.

Säure-Basen-Status bei Aufnahme: pH 7,38, pCO_2 32 mm Hg, Bikarbonat 20,1 mval/l, Basenexcess -5 mval/l, pO_2 84 mm Hg, O_2-Sättigung 97 %.

Normale Elektrophoresewerte.
Blutzuckerwerte nur im Tagesprofil als Zeichen des latenten Diabetes bis auf 158 mg% ansteigend.

EKG:
Absolute Arrhythmie bei Vorhofflimmern mit Frequenzen um 95/min. Plumpes, atemkonstantes Q in Einthoven II, III, aVF. Auffällige gleichschenklig spitzwinklige T-Negativierung von V 2 bis V 6, schwerpunktmäßig rechtspräcordial ohne R-Verlust in V 2, V 3, V 4. In V 5 und V 6 diskret abgesenkter ST-Abgang. Insgesamt typische Erregungsrückbildungsstörungen für cerebrale Ischämie in Form von gleichschenkligen spitz konfigurierten T-Negativierungen, schwerpunktmäßig rechtspräcordial ohne weitere Zeichen, die differentialdiagnostisch einem inferioren oder posterioren Myokardinfarkt entsprechen könnten.

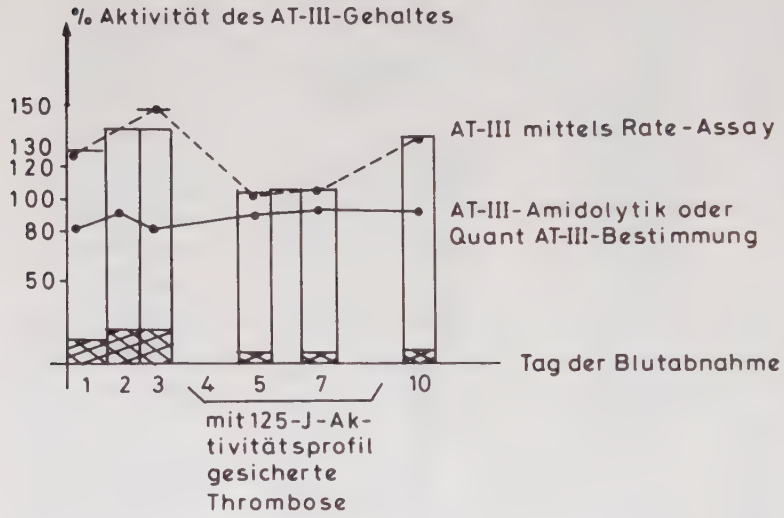
Abschließender klinischer Befund: Unter guter Mitarbeit der Patientin konnte gegen Ende des stationären Aufenthaltes eine weitgehende Restitution der neurologischen Ausfallserscheinungen und insbesondere wieder Gehfähigkeit erreicht werden.



Lokalisation der Messpunkte für das
125-Jod-Fibrinogen-Verlaufsprotokoll

Messpunkt 4/5
o re. Bein bei Pkt. 4/5 , ● li. Bein bei Pkt. 4/5
125-Jod-Aktivitätsverteilung als Funktion der Praecordialaktivität zum Aufspüren einer Beinvenenthrombose

Antithrombin-III-Verläufe der obigen Patientin, aufgezeichnet nach verschiedenen Messmethoden in Korrelation zum Heparingehalt



⊠ Heparingehalt am Tg. 1,2,3,5,7,10 der Plasmaproben

Der Rate-Assay erbrachte am 5.-7. Tag einen Aktivitätsabfall von mehr als 30% Anti-Xa-Akt. in Relation zum Ausgangswert (am Tg. 1 mit vergleichbarer Heparinmenge). Die AT-III-Bestimmungen mittels Amidolytik-Quant-AT-III und Partigen-Platte zeigten keinen signifikanten abfallenden Verlauf.

4. Zusammenhang / Klinik / Labor

4.1. Mittelwerte der AT-III resp. Xa-Inhibitor-Aktivität

4.1.1. Mittelwerte Amidolytik (Merk. 3) (in %-AT-III-Aktivität)

		Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:	$\bar{x}$ =	80,87	81,7	79,1	74,86	79,6	82,2
	s =	11,2	8,9	12,8	16,1	10,0	12,35
HDHE-Gruppe:	$\bar{x}$ =	87,43	86,00	82,79	84,18	83,0	87,5
	s =	7,56	7,17	8,92	9,21	8,7	7,2

4.1.2. Mittelwerte Partigen (Merkmal 5)

		Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:	$\bar{x}$ =	23,38	24,16	21,98	21,75	22,05	22,46
	s =	3,08	2,43	2,98	4,52	2,85	2,82
HDHE-Gruppe:	$\bar{x}$ =	26,40	25,84	25,02	24,68	23,91	25,28
	s =	2,27	2,95	3,28	3,51	3,92	3,65

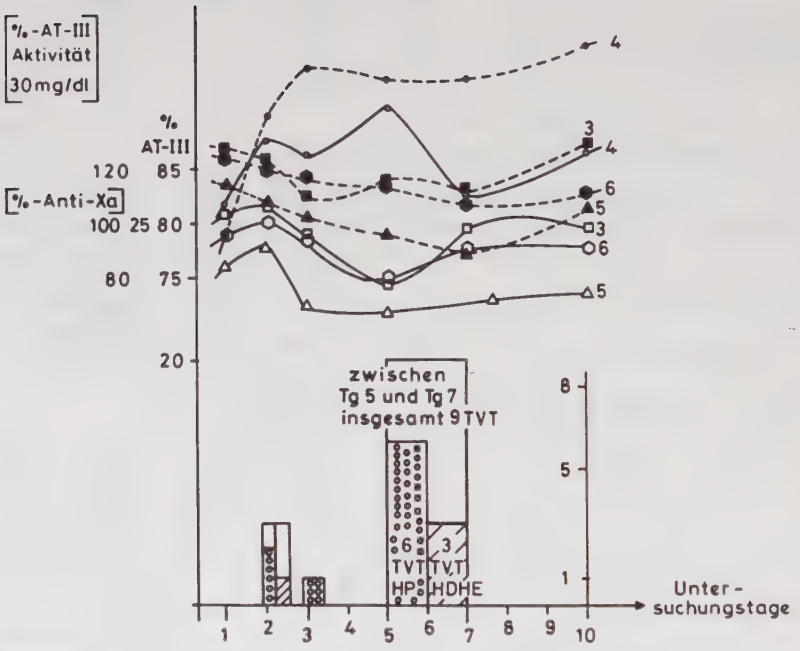
4.1.3. Mittelwerte Quant-AT-III-Assay (Merkmal 6)

		Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:	$\bar{x}$ =	24,55	25,16	24,37	23,03	24,16	24,26
	s =	3,7	2,38	3,21	3,86	3,47	3,72
HDHE-Gruppe:	$\bar{x}$ =	27,51	27,05	26,76	26,37	25,70	26,10
	s =	1,62	2,31	1,90	2,15	2,56	2,04

4.1.4. Mittelwerte Rate-Assay (Merkmal 4)

		Tg 1	Tg 2	Tg 3	Tg 5	Tg 7	Tg 10
HP-Gruppe:	$\bar{x}$ =	95,66	140,67	157,26	154,33	153,91	166,06
	s =	18,71	33,86	39,59	57,48	58,23	53,27
HDHE-Gruppe:	$\bar{x}$ =	107,54	130,89	126,07	143,67	111,42	127,40
	s =	25,63	27,10	41,77	81,01	38,79	35,23

Abb.11: AT-III resp. anti-Xa-Aktivitätsmittelwerte im Zusammenhang mit Jod-125-Fibrinogenpositiven Thrombosen der Thromboseprophylaxegruppe (HP) und (HDHE)



▨ HP = Heparin-Gruppe
▨ HDHE = Dihydergot-Heparin-Gruppe
TVT = tiefe Beinvenenthrombose
△ — HP-Gruppe
▲ --- HDHE-Gruppe

3 = Amidolytik-AT-III-Mittelwerte [Äkt. %]
4 = Anti-Xa-Aktivität (Rate-Assay) [Äkt. %]
5 = Partigen-AT-III-Mittelwerte [mg/dl]
6 = Quant-AT-III-Mittelwerte [mg/dl]

D. DISKUSSION

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß die Zahl der Thrombosen bei bettlägerigen Patienten auch durch differenzierte klinische Befunderhebungen nur in einem geringen Prozentsatz (2 TVT von 13 TVT) erfaßt wurden. Erst mit dem Radio-Jod-125-Fibrinogentest konnte das wirkliche Ausmaß der Zahl der TVT erfaßt werden. Zu beachten ist, daß falsch positive Werte nach Beinverletzung sowie umfangreichen Ödemen gemessen werden können. Diese Erkenntnisse über die Inzidenzrate der TVT decken sich mit den in der Literatur gefundenen Inzidenzraten von TVT nach hüftchirurgischen oder gynäkologischen Operationen (70,71,72).

Ein wesentlicher Vorteil des Radio-Jod-Fibrinogentests als Screeningmethode zur Erfassung TVT unter "low-dose-Heparin-Therapie besteht in der Unabhängigkeit der biologischen Halbwertszeit des radioaktiv markierten Jod-Fibrinogens von Heparinspuren (68). Die Gesamtreproduzierbarkeit des Tests einschließlich statistischer und geometrischer Fehler ist mit einer höchstens 5%igen Irrtumswahrscheinlichkeit behaftet (69). Ferner ist für das Abwenden einer erhöhten Lungenemboliegefahr das Erfassen des w a c h s e n d e n Thrombus von größter Bedeutung. Der Radiojodtest ist deshalb durch seine schon frühzeitige Erfassung der Fibrinogenaktivitätsänderungen als Screeningmethode zur Inzidenzerfassung von TVT gut geeignet.
Eine medikamentöse Thromboseprophylaxe ist bei internistischen Patienten mit länger andauernder Bettlägerigkeit wegen der Gefahren von TVT und Embolie dringend erforderlich. Sehr viele Erfahrungen auf diesem Gebiet wurden bei Patienten nach chirurgischen Eingriffen mit einer "low-dose" Prophylaxe gesammelt. Diese wurde schon 1966 von SHARNOFF in die Klinik eingeführt. Seit etwa 1975 gewann zu der üblichen Prophylaxe mit 3 x 5000 IE Heparin auch die Thromboseprophylaxe mit der Kombination von 3 x 2500 IE Heparin und 0,5 mg Dihydroergotamin zunehmend an Bedeutung.

Die pharmakologische Wirkung der Kombinationstherapie greift dadurch an 2 Stellen der Pathogenese der Thromboseentstehung (siehe Einleitung) ein:

1. Reduktion der plasmatischen Hyperkoagulabilität durch Heparin,

2. Verminderung der Stase-Komponente durch Dihydroergotamin.

Bei dieser Apoplexie-Studie erbrachte die ermittelte Thromboseinzidenz verteilt auf die beiden Prophylaxegruppen, wie früher in Untersuchungen über postoperative Thrombosekomplikationen gezeigt werden konnte (67), die Überlegenheit der Kombinationstherapie (4 Thrombosen in der HDHE-Gruppe versus 9 TVT in der HP-Gruppe). Nebenwirkungen der Prophylaxe wie Blutungskomplikationen, Erhöhung der alkalischen Phosphatase, signifikanter Transaminasenanstieg, allergische Reaktionen oder Ergotismus auf Heparin resp. Ergotamin konnten nicht gefunden werden. Auch trat bei keinem der Patienten, die mit HDHE therapiert wurden, eine pektanginöse Beschwerdesymptomatik auf.

Zusammenfassend lassen sich die in der Einleitung gestellten Fragen wie folgt beantworten:

1. Aus den Ergebnissen der Methodenheuristik ist eine gute Korrelation zwischen dem Quantitativen AT-III-Test und der Partigenplattenmethode ersichtlich. Der Vorteil des Quant-AT-III-Tests gegenüber des immunologischen Tests mittels Partigenplatte zur Erfassung der AT-III-Aktivität liegt in der Bestimmung des tatsächlich funktionell aktiven AT-III-Gehaltes. Gegenüber der amidolytischen Methode ist dieser Test von Farbstoffinteraktionen durch Hämolyse unabhängig. Auch erhöhte Thyreoglobulinwerte sowie hohe Bilirubinwerte spielen durch die hohen

Plasmaverdünnungen im Testansatz eine unbedeutende Rolle. Ebenso können bei dem Quant-AT-III-Test durch die hohen Plasmaverdünnungen kompetitive Inhibitoren wie α_1-Antitrypsin oder α_2-Makroglobulin hinreichend wirkungsvoll eliminiert werden.
Die falsch niedrig gemessenen Xa-Inhibitorwerte mittels des RATE-Assay's bei hohem TBG-Gehalt der zu untersuchenden Plasmaprobe könnten durch eine Interaktion von TBG mit der "low-density-Proteinfraktion" der Gerinnungsinhibitoren (Anti-Xa, AT-III) erklärt werden. Diese zufällig gefundene Beobachtung bedarf jedoch der Bestätigung durch Untersuchungen mit einer hinreichend großen Fallzahl.
Der Nachteil des RATE-Assay's als einem sehr empfindlichen Test zur Erfassung der Xa-Inhibitor-Aktivität liegt darin, daß bei Verwendung von neuen Faktor-Xa-Testsubstanz-Chargen eine Eichung durch Proben eines standardisierten Plasmapools erfolgen sollte.

2. In den Voruntersuchungen (Methodenheuristik) zeigte sich eine Abhängigkeit der AT-III-Tests wie Quant-AT-III, Amidolytik von der im Plasma vorhandenen Lipoproteinfraktion. Deshalb sollte bei Anwendung dieser Testverfahren zur Bestimmung der AT-III-Aktivität eine Vorbehandlung der Plasmen durch Frigen durchgeführt werden.

Wie schon erstmals YIN, WESSLER und GITEL (62, 73) vermuteten, sowie die Untersuchungen von VESSEY und MANN (74) erhärteten, konnte bei den Vorversuchen eine erniedrigte Xa-Inhibitor-Aktivität bei Probanden mit Einnahme von oralen Antikonzeptiva gegenüber Probanden ohne Pilleneinnahme gefunden werden.
Dieser Unterschied war hoch signifikant. Die Ergebnisse einer diesbezüglichen Untersuchung mit hoher Fallzahl werden noch veröffentlicht. Diese Erkenntnis könnte,

was den plasmatischen "Schenkel" der Blutgerinnung anbetrifft bei zusätzlich vorhandenen Risikofaktoren das spontane Auftreten von Thrombosen bei Frauen mit Pilleneinnahme zumindest teilweise erklären.
Auch die Hypothese der stöchiometrischen (1:1) Komplexbindung zwischen den Inhibitoren und dem aktivierten Fa-X konnte in den Versuchen (Methodenheuristik) erhärtet werden (s.S.19 Abb. 6).

3. In der HDHE-Gruppe zeigte sich gegenüber der HP-Gruppe von Patienten mit frischem apoplektischem Insult ein Beinvenenthromboseverhältnis von 4:9 (28,57 % TVT zu 60 %). Wegen dieser relativ hohen Inzidenz und dem sich daraus deutlich abzeichnenden Unterschied bezüglich der Effizienz der Thromboseprophylaxe konnte aus ethischen Gründen eine wahrscheinlich noch signifikantere Unterschiede zeigende höhere Fallzahl nicht abgewartet werden. Wie auch aus der Kasuistik ersichtlich ist, schützt bei Vorhandensein von mehreren zusätzlichen Risikofaktoren bei bettlägerigen internistischen Patienten auch eine Thromboseprophylaxe mit HDHE nicht wirksam genug. Diese Erkenntnisse ergeben sich auch aus den Arbeiten von BUTTERMANN (64) und KAKKAR (65).

   Eine Untersuchung von BRÜCKE, VINAZZER und SIMMA unterstreicht, daß die Kombination von Heparin + DHDE in 12-Stunden-Intervallen s.c. verabreicht eine vergleichbare Wirksamkeit besitzt wie die subkutane Gabe von Heparin allein in 8-stündigem Abstand. Ferner zeigten sich in diesen Untersuchungen keine größeren Blutungskomplikationen in der HDHE-Gruppe als in der HP-Gruppe (76).

   Daß bei der HDHE-Gruppe mit radiopositiven Thrombosen eine geringere Anzahl an Blutproben gefunden werden konnte, in denen keine meßbaren Heparinspuren vorhanden waren, dürfte durch eine Verbesserung des Venentonus und einer dadurch günstigeren Heparinverteilung durch die Ergotamin-Medikation bedingt sein.

4. Die AT-III-Aktivität, gemessen mittels der amidolytischen -, der Partigenplatten- und der Quant-AT-III-Methode zeigt an den Tagen, an denen radiopositive TVT diagnostiziert wurden, einen Abfall der AT-III-Aktivität unter 24 mg/dl resp. 80 % (Amidolytik) gegenüber dem Vortag.
   Mittels des Rate-Assay's konnte bei allen Patienten, bei denen eine radiopositive TVT diagnostiziert wurde, heparinabhängig eine Verminderung der Anti-Xa-Aktivität gegenüber den Vortagen gemessen werden. Da dieser Test sehr empfindlich Schwankungen der Anti-Xa-Aktivität aufspürt, jedoch heparinabhängig ist, müßte zur exakten Beurteilung an mehreren Tagen eine genaue Heparin- resp. Xa-Inhibitor-Aktivität des untersuchten Plasmas ermittelt werden.
   Wie wichtig nun die Bestimmung des Anti-Xa-Lipoproteins im Zusammenhang mit der Heparinisierung ist, geht nicht zuletzt aus dieser klinischen Studie hervor, sondern Arbeiten von YIN, WESSLER und KAKKAR (68) zeigten, daß schon geringe Spuren Heparin die Aktivität von Fa-Xa-Inhibitor so potenzieren, daß große Mengen des aktivierten Fa-Xa neutralisiert werden können.
   YIN und WESSLER konnten sogar zeigen, daß in Anwesenheit von Heparinspuren 1 mg Fa-Xa-Inhibitor 32 Units des aktivierten Fa-X zu neutralisieren vermag. Dies entspricht einer Blockade von 1600 Units Thrombin und unterstreicht die Bedeutung der "low-dose-Heparinisierung" zur Prophylaxe tiefer Beinvenenthrombosen.
   Wie schwierig in diesem Zusammenhang eine zuverlässige Kontrolle der im systemischen Blutkreislauf vorhandenen Heparinmenge unter "low-dose-Heparinisierung" ist, geht schon aus den Untersuchungen von DENSON und BONNAR (75) hervor. Mit Ausnahme der Protaminsulfat-Titration basieren alle Heparinbestimmungen auf Tests, die die Gerinnungszeit des Reaktionsgemisches messen. Dies ergibt den Nachteil, daß bei Patienten mit hohem Gehalt an Gerinnungsfaktoren im Nativblut - dies ist z.B.

während der Gravidität, bei Pilleneinnahme (eine Zunahme des Fa-VIII wurde beschrieben) und in der postoperativen Phase relevant - eine kurze Gerinnungszeit und damit konsekutiv ein falsch niedriger Heparingehalt gemessen wird. Umgekehrt ergibt sich bei akuter "disseminierter intravaskulärer Gerinnung" eine falsch positive Heparinkonzentration.
YIN und WESSLER beschrieben eine Heparinbestimmungsmethode, die den Potenzierungseffekt von Heparin auf den Fa-Xa-Inhibitor zugrunde legt. Diese Methode bedarf allerdings bei ständig variierenden Gerinnungsfaktor-Konzentrationen eine individuelle Referenzprobe zur validen Interpretation.
In der vorliegenden Arbeit wurde der Heparingehalt mit der "Kabi-Coatest-Methode" gemessen. In besonders schwierig zu interpretierenden Fällen wurde zusätzlich die Heparinbestimmungsmethode, basierend auf der Anti-Xa-Potenzierung nach YIN, WESSLER und BONNAR, angewandt (siehe auch Abb. 5b).

Bei allen durchgeführten Laboranalysen wurden Doppelt- resp. Mehrfachbestimmungen durchgeführt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden randomisierten Studie wurde an insgesamt 29 Patienten mit apoplektischem Insult die Inzidenz tiefer Beinvenenthrombosen (TVT) mittels des Radio-Jod-125-Fibrinogentests ermittelt.
Prospektiv wurde eine Thromboseprophylaxe durch Verabreichen von 3 x 5000 IE Heparin oder 2 x 5000 IE Heparin + 0,5 mg Dihydroergotamin durchgeführt.
Bei allen Patienten wurden folgende gerinnungsanalytischen Untersuchungen am Aufnahmetag (Tg. 1) und den Tagen 2, 3, 5, 7, 10 durchgeführt:

Bestimmung der Partiellen Thromboplastinzeit (path. u. date), der Heparinkonzentration und der Anti-Thrombin-III-Aktivität respektive Fa-Xa-Inhibitor-Aktivität mittels Partigenplatte, Amidolytik, dem Quant-AT-III-Test nach WESSLER und dem Rate-Assay.
Die klinische Diagnose einer TVT konnte nur bei 2 Patienten gestellt werden.
Der Radio-Jod-Fibrinogen-Test spürte bei 4 Patienten der HDHE-Gruppe und 9 Patienten der HP-Gruppe eine TVT auf (dies entspricht 60% TVT in der HP-Gruppe und 28,57 % in der HDHE-Gruppe). Dieser Unterschied ist mit 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit statistisch signifikant.
Der Anti-Thrombin-III-Verlauf zeigte in beiden Gruppen einen merklichen Abfall zwischen Tag 3 und Tag 7. In diesem Untersuchungszeitraum ergab sich in beiden Gruppen die größte radiopositive Thromboserate (siehe Abb. 11, S. 71).

Bei 12 von 13 Patienten mit radiopositiver TVT war am Tag der Thrombose der AT-III-Aktivitätsgrad bestimmt mit dem Quant-AT-III-Assay und der Partigenplatte kleiner als 24 mg/dl. Mit dem Rate-Assay konnte bei allen Patienten mit TVT unter Berücksichtigung der Heparinkonzentration am Tag der radiopositiven TVT ein deutlicher Aktivitätsabfall des Fa-Xa-Inhibitors gegenüber dem Wert des Vortages ermittelt werden.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. CONN, W.W.: Epidemiology of venous thromboembolism. Ann. Surg. 186, 149 (1977).

2. KAKKAR, V.V.: Arch. Surg. 104, 151 (1972).

3. KAPPERT, A.: Komplikationen von tiefer Phlebothrombose. In: A. KAPPERT: Lehrbuch und Atlas der Angiologie. 10. Auflage, Bern-Stuttgart-Wien, Hans Huber-Verlag 298 (1981).

4. KAPPERT, A.: Postthrombotisches Syndrom. In: A. KAPPERT: Lehrbuch und Atlas der Angiologie, Bern-Stuttgart-Wien, 301 (1981).

5. HIRSH, J., HULL, R.: Natural history and clinical features of venous thrombosis. In: COLMAN, R.W., HIRSH, J., MARDER, V., SALZMAN, W.: Haemostas and thrombosis. Philadelphia, Toronto, Lippincott Company, 831-843 (1982).

6. THOMAS, D.P.: Pathogenesis of venous thrombosis. In: COLMAN, R.W., HIRSH, J., MADER, V.J., SALZMAN, W.: Hemostasis and thrombosis. Basic principles and practice. J.P. Lippincott Comp., 820-830 (1982).

7. NICOLAIDES, A.N.J., GORDON-SMITH: In: A.N.J. NICOLAIDES: Thromboembolism. MTP Co., Lancaster, 205 (1975).

8. COLLEN, D.: Natural inhibitors of Haemostasis with particular reference to fibrinolysis. In: Haemostasis and Thrombosis, edited by BLOOM, A.L., THOMAS, D.P.; Churchill Livingstone, 225-232 (1981).

9. EGEBERG, O.: Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia.
Thromb. Diath. Haemorrh. 13, 516-530 (1965).

10. LECHNER, K. et al.: In: EHRINGER, H. (Hrsg.): Akute tiefe Becken- und Beinvenenthrombosen.
Aktuelle Probleme in der Angiologie, Hans Huber-Verlag, Bern-Stuttgart, Wien, 193 (1977).

11. SAS, G., BLASKÓ, G., BÁNHEGYI, D., JAKÓ, J. and PALOS, L.A.: Abnormal antithrombin III as a cause of familial thromboembophilia.
Thromb. diath. haemorrh. 32, 105-114 (1974).

12. MC FARLANE, R.G.: An enzym cascade in blood clotting mechanism and its function as a biochemical emplifier.
Nature (Lond.) 202, 498 (1964).

13. SEEGERS, W.H.: Prothrombin.
In: Encymology, thrombosis and haemophilia.
Thomas, Springfield (1967).

14. MARZINIAK, E., FARLEY, C.H. and DESIMONE, Ph.A.: Familial thrombosis due to AT-III-deficency.
Blood, Vol. 43, 219-231 (1974).

15. BLEYL, H., ROKA, L.: Die Rolle des Heparins bei der Thrombininhibition durch Antithrombin.
Folia Haematologie, Leipzig 104, 719 (1977).

16. EINARSSON, R. and ANDERSSON, L.O.:
Biochem. Biophys. Acta 490, 104 (1977).

17. ANDERSSON, L.O., HEMMINGSSON, E.:
J. Immunol. methods 14, 271 (1977).

18. ROSENBERG, R.: Heparin chemistry and clinical usage, in: KAKKAR, V.V. and THOMAS, D.P. Academic Press, London, 101 (1976).

19. HOLMER, E., SÖDERSTRÖM, G. and ANDERSSON, L.-O.: Studies on the mechanism of the rate - enhancing effect of heparin on the thrombin-AT-III reaction. Eur. J. Biochem. 93, 1 (1979).

20. LI, E.H., FENTON, J.W. and FEINMANN, R.D.: Arch. Biochem. Biophys. 175, 153-159 (1976).

21. LI, E.H., ORTON, C. and FEINMANN, R.D.: Biochemistry 13, 5012-5017 (1974).

22. ROSENBERG, R.D.: Actions and interactions of anti-thrombin and heparin. N. Engl. J. Med. 292,I, 146-152 (1975).

23. BEST, C.H.: In: Blood clotting and allied problems. Josiah Macy Jr. Foundation, New York, I, 26 (1948)

24. SEEGERS, W.H.: Antithrombin as proteinase inhibitor. Ann. N.Y. Acad. Science 146, 593 (1968).

25. EGEBERG, O.: On the natural blood coagulation inhibitor-system, investigations of inhibitor factors based on antithrombin deficient blood. Thromb. Diath. Haemorrh. 14, 473-489 (1965).

26. WESSLER, S. and YIN, E.T.: On the antithrombotic action of heparin. Thromb. Diath. Haemorrh. 32, 71-78 (1974).

27. ABBILDGAARD, U.: Heparin-Cofactor and antithrombin.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 33, 38-42 (1974).

28. SCULLY, M.F., ELLIS, V., KAKKAR, V.V.: Studies of anti-Xa-activity.
Thromb. Res. 29, 387-388 (1983).

29. ABBILDGAARD, U.: A review of antithrombin III.
In: COLLEN, D., WIMAN, B., VERSTRAETE, M. (eds.): The physiological inhibitors of blood coagulation and fibrinolysis.
Elsevier/North Holland, Amsterdam, 19-29 (1979a)

30. GERENDAS, M.: Thrombin inactivation as an enzymatic process.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 4, 56 (1960).

31. YIN, E.T. and WESSLER, S.: Heparin-accelerated inhibition of activated factor-X by its natural inhibitor.
Biochem. Biophys. Acta 201, 387-390 (1970)

32. KAKKAR, V.V., CORRIGAN, T.P. and FOSSARD, D.P.: Prevention of fatal postoperative pulmonary embolism by low dosis of heparin. An international multicentre trial.
Lancet II, 45-51 (1975).

33. YUE, R.H., STARR, T. and GERTLER, M.M.: The rivanol method for the quantitativ determination of AT-III in plasma.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 31, 439-451 (1974).

34. DENSON, K.W.E., BONNAR, J.: The measurement of heparin, a method based on the potentiation of anti-Xa.
Thromb. Haemostasis 30, 471 (1973).

35. YIN, E.T., WESSLER, S., BUTLER, J.V., COLE, S.:
Plasma heparin: A unique practical submicrogram-sensitive assay.
J. Lab. Clin. Med. 81, 298 (1973).

36. ABBILDGAARD, U.: Purification of two progressive antithrombins of human plasma.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 19, 190 (1967).

37. MILLER-ANDERSON, M., BORG, H. and ANDERSON, L.:
Purification of antithrombin III by affinity chromatography.
Thromb. Res. 5, 439 (1974).

38. SEEGERS, W.H., and SMITH, H.P.: Antithrombic activity of plasma: quantitative interrelationships.
Proc. Soc. Exp. Biol. 52, 159 (1943).

39. ASTRUP, T., and DARLING, S.: Measurement and properties of anti-thrombin.
Acta Phys. Scand. 4, 293 (1942).

40. HENSEN, A., and LOELIGER, E.A.: Antithrombin III - Its metabolism and function in blood coagulation.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. (Suppl. 1 to Vol. IX) (1963).

41. BONVAR, J. et al.:
In: A.N. NICOLAIDES: Thromboembolism.
MTB, Lancaster, 311 (1975).

42. BROWSE, N.L., CLEMENSON, G., CROFT, D.N.: Fibrinogen-detectable thrombosis in the legs and pulmonary embolism.
Brit. Med. J. I, 603-604 (1974).

43. FORSBERG, K.: J-125-fibrinogen in the diagnosis of deep vein thrombosis.
Brit. Med. J. 4, 286 (1975).

44. BUTTERMANN, G., THEISINGER, W., OECHSLER, H., HÖR, G.: Untersuchungen über die postop. Thromboembolieprophylaxe nach einem neuen Behandlungsprinzip.
Dtsch. Med. Wochenschr. 2, 2065-2069 (1975).

45. BROWSE, N.L.G., CLEMENSON, D.N., CROFT, D.N.: Fibrinogen detectable thrombosis in the legs and pulmonary embolism.
Brit. Med. J. I, 603-604 (1974).

46. HOBBS, J.T., NICOLAIDES, A.N.J.: The diagnosis of acute deep vein thrombosis with 125-iodinated fibrinogen.
Aktuelle Probleme in der Angiologie 19, 205-213, Bern: Hans Huber-Verlag (1973).

47. KERRIGAN, G.N.W., BUCHANAN, M.R., CADE, J.F., REGOECZI, E., HIRSH, J.: Investigation of the mechanism of false positive 125-J labelled fibrinogen scans.
Brit. Med. J. 260, 469-473 (1974).

48. GALLUS, A.S., HIRSH, J., HULL, R.: Diagnosis of venous thromboembolism.
Semin. Thromb. Hemostas. 2, 203-231 (1976).

49. SIGEL, B.R., FELIX, G.L., POPKY: Diagnosis of lower limb venous thrombosis by doppler ultrasonal technique.
Surg. Gynec. Obstet. 127, 339 (1969).

50. ASBECK, F.: Die Bedeutung technischer Verfahren für die Diagnostik tiefer Venenthrombosen.
Dtsch. Med. Wochenschr. 1, 882-884 (1980).

51. JUNG, W.R., FRIDRICH, F., DUCKERT, U.F., GRUBER:
Der Radiojodfibrinogentest zur Diagnose fischer tiefer Venenthrombosen.
Schweiz. Med. Wochenschr. 1, 391-398 (1975).

52. HULL, R., HIRSH, J., SACKETT, D.L., POWERS, P., TURPIE, A.G.G., WALKER, I.: Combined use of leg scanning and impedance plethysmography in suspected venous thrombosis.
New Engl. J. Med. 296, 1497-1500 (1977).

53. KAKKAR, V.: The diagnosis of deep vein thrombosis using the 125-I-fibrinogen test.
Arch. Surg. 104, 152-159 (1972).

54. OTTOLANDER, G.J.M., van de MAAS, A.P.C. and SCHOPMAN, W.: The use of the fibrinogen turnover and isotope scanning of the legs for the diagnosis of venous thrombosis in non surgical patients.
Thrombosis et diathesis haemorrh. 32, 277-283 (1974).

55. COOKE, E.D., PILCHER, M.F.: Deep venous thrombosis. Preclinical diagnosis by thermography.
Brit. J. Surg. 61, 971 (1974).

56. GALLUS, A.S., HIRSH, J.: Prevention of venous thromboembolism.
Thromb. Haemostas. 2, 232-290 (1976).

57. GALLUS, A.S., HIRSH, J., TUTTLE, R.J. et al.: Small subcutaneous dosis of heparin in prevention of venous thrombosis.
New Engl. J. Med. 288, 545-551 (1973).

58. American Heart Association: Prevention of venous thromboembolism in surgical patients by low dose heparin. Special report prepared by the Council ob Thrombosis Circ. 55, 423 A (1977).

59. KAKKAR, V.V.: Der derzeitige Stand der Prophylaxe venöser Thrombosen und Lungenembolien mit niedrig dosiertem Heparin, in: Thrombose und Embolie. H. VINAZZER (ed.), Berlin, Springer, 180 (1981).

60. KAKKER, V.V., SPINDLER, J., FLUTE, P.T., CORRIGAN, T., FOSSARD, D.P., CRELLIN, R.Q., WESSLER, S., YIN, E.T.: Antithrombin III and heparin. Lancet I, 103-104 (1972).

61. KAKKAR, V.V., STAMATAKIS, J.D., BENTLEY, P.G., LAWRENCE, D., DE MAAS, H.A., WARD, V.P.: Prophylaxis for postop. deep vein thrombosis. Synergistic effect of heparin and dihydroergotamin. J. Amer. med. Ass. 241, 39 (1979).

62. GITEL, Sanford N. and WESSLER, S.: Plasma antithrombin III: A quantitative assay of biological activity. Thromb. Res. 7, 5-16 (1975).

63. YIN, T.E., WESSLER, S., and BUTLER, J.V.: Plasma heparin: A unique, practical, submicrogram-sensitive assay. Am. J. Lab. Clin. Med. 2, 298 (1973).

64. BUTTERMANN, G.: Untersuchungen zur medikamentösen Prophylaxe postoperativer Thrombosen und Embolien. Habilitationsschrift der Techn. Universität München (1976)

65. KAKKAR, V.V., C.T. HOWE, A.N. NICOLAIDES, J.T. G. RENNEY, M.B. CLARKE: Deep vein thrombosis of the leg - is there a high risk group? Amer. J. Surg. 120, 527 (1970).

66. NICOLAIDES, A.N., IRVING, D.: Clinical factors and the risk of deep venous thrombosis. In: A.N. NICOLAIDES (ed.): Thromboembolism. MTP St. Leonardgate, Lancs., UK., 193 (1975).

67. BREDDIN, K., HÄRING, R. und KOPPENHAGEN, K.: Prävention postop. thrombotischer Komplikationen mit Heparin und Dihydroergotamin. Dtsch. Med. Wochenschr. 1, 98-102 (1983).

68. DAVIES, J.W.L., FORSBERG, K., LILJEDAHL, S.-O., MÄRTENSSON, O. and REIZENSTEIN, P.: The effect of anticoagulants on postoperative fibrinogen metabolism. Acta med. Scand. 194, 277-283 (1973).

69. FORSBERG, K.: ^{125}I-fibrinogen in the diagnosis of deep vein thrombosis. Br. Med. J. IV, 286 (1975).

70. BOCKSLAFF, H., BARTHELS, M., STOLLE, E., TRENTZ, O., WUPPERMANN, TH, ZECH, G.: Frühdiagnose von Beinvenenthrombosen mit dem Radiojodfibrinogen-Test bei Patienten mit alloplastischem Hüftgelenksersatz. Münch. Med. Wochenschr. II, 1397-1404 (1974).

71. HARRIS, W.H. et al.: Comparison of I-125-fibrinogen - count scanning with plebography for detection of venous thrombi after elective hip surgery. N. Engl. J. Med. 292, 665-667 (1975).

72. KUNZ, S., DRÄHNE, A., BRIEL, R.C.: Prophylaxe der postop. Thromboembolie-Erfahrungen mit Heparin-Dihydergot^{R} in der Gynäkologie.
In: Postoperative Thromboembolieprophylaxe von H.W. PABST und G. MAURER.
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 133-144 (1977).

73. GITEL, S.N., STEPHENSON, B.C. and WESSLER, S.: The activated factor X-antithrombin-III reaction rate: a measure of the increased thrombotic tendency induced by estrogen-containing oral contraceptives in rabits.
Haemostasis 7, 10-18 (1978).

74. VESSEY, M.P. and MANN, J.: Female sex hormones and thrombosis.
Brit. Med. Bull. 34, 2, 157-162 (1978).

75. DENSON, K.W.E. and J. BONNAR: Measurement of heparin in patients receiving subcutaneous heparin therapy.
Brit. J. Haematol. 30, 139 (1975).

76. BRÜCKE, P., DIENSTL, E., VINAZZER, H. and W. SIMMA: Prophylaxis of postoperative thromboembolism: low-dose heparin versus heparin plus dihydroergotamin.
Thrombosis Res. 29, 377-382 (1983)

77. BIGGS, R., DENSON, K.W.E., AKMAN, N., BORRETT, R., and M. HADDEN: Antithrombin III, antifactor Xa and Heparin.
Brit. J. Haematol. 19, 283-305 (1970).

78. DUDKO, N.E., BREZVERHIJ, V.D.:
Sowj. Med. I, 37-43 (1962).

79. FERLICK, J.: Antikoagulantien.
VEB, Georg Thieme (1964).

80. PAVLOVSKIY, D.P.:
Arch. Path. 8, 70-76 (1963).

81. SANDRITTER, W.: Die pathologische Anatomie der Thrombose und Lungenembolie.
Behringwerke - Mitteilungen 41 (1962).

82. SANDRITTER, W., BENEKE, G.: Thrombose.
In: Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie.
Ergänzungsband 1/1, Hrsg. E. KAUFMANN, W. STAEMMLER,
De Gruyter, Berlin (1969).

83. HUNTER, W.C., KRYGIER, J.J., KENNEDY, J.C., SNEEDEN, V.D.:
Surgery 17, 178 (1945).

84. DENCK, H., DONAS, P.: Häufigkeit und Behandlungsergebnisse akuter Becken- und -Beinvenenthrombosen.
Vas 3, 1 (1974).

85. FREIMANN, D.G., SUYEMOTO, J., WESSLER, S.: Frequency of pulmonary thromboembolism in man.
N. Engl. J. Med. 272, 1278 (1965).

86. SCHEPPING, H., BREDDIN, H.K.: Die Lungenembolie, Häufigkeit, Pathophysiologie, Symptomatologie, Diagnostik, Therapie.
Dtsch. Ärztebl. 15, 1039-1044 (1975).

-Anhang Nr. 1 -

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Prophylaxe siehe unter Pat. Nr.	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr. 1 Hp	PTT-Pathromtin		1	31,05	36,30	37,95	40,60	40,20	35,95	35-40
	PTT-Cephalopl.		2	23,0	25,6	32,3	30,2	27,05	23,95	25-35
	AT-III-Amidol.		3	84	81	72	79	78	98	80-120
	Rate-Assay		4	107,4	220,2	175,4	240,0	220,0	240,0	> 80
	AT-III-Partigen		5	27,0	25,0	20,2	21,4	23,0	22,4	22-32
	AT-III-Quant.		6	26,83	27,94	24,44	24,7	29,3	29,8	25-35
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 2 HDHE	PTT-Pathromtin		1	32,30	40,10	36,6	30,45	32,85	39,25	
	PTT-Cephalopl.		2	24,65	27,95	26,9	26,0	26,9	27,7	
	AT-III-Amidolyt.		3	83	78	96	85	86	87	
	Rate-Assay		4	98,0	31,3	36,0	102,3	125,3	144,0	
	AT-III-Partigen		5	23,8	20,2	25,0	22,6	23,2	22,6	
	AT-III-Quant.		6	24,4	22,2	27,6	25,7	25,7	25,8	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 4 HDHE	PTT-Pathromtin		1	41,60	30,20	47,0	52,25	42,25	44,9	
	PTT-Cephalopl.		2	30,85	25,6	37,75	36,45	32,60	35,10	
	AT-III-Amidolyt.		3	92	90	77	83	82	91	
	Rate-Assay		4	172,7	163,8	178,1	250,6	125,3	186,8	
	AT-III-Partigen		5	28,2	25,6	23,8	24,6	24,6	27,6	
	At-III-Quant.		6	28,7	27,5	26,2	28,4	27,6	28,2	
	Heparin		7	0	0,04	0	0,03	0	0,03	

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Prophylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr. 5 HDHE	PTT-Pathromtin		1	36,4	37,3	36,2	41,9	47,0	50,8	35-45
	PTT-Cephalopl.		2	26,7	28,8	27,8	30,9	34,1	33,4	25-35
	AT-III-Amidol.		3	100	93	91	93	88	94	80-120
	Rate-Assay		4	129,3	154,8	129,2	119,9	122,4	131,1	80
	AT-III-Partigen		5	30,4	28,4	28,2	30,0	24,6	28,0	22-32
	AT-III-Quant.		6	30,4	28,4	29,9	29,4	27,1	28,6	25-35
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 6 HDHE	PTT-Pathromtin		1	42,1	39,7	44,0	200	44,9	36,8	
	PTT-Cephalopl.		2	30,0	30,3	31,3	130,9	32,9	29,6	
	AT-III-Amidolyt.		3	76	71	69	68	84	83	
	Rate-Assay		4	86,8	103,4	99,2	340,0	78,7	90,8	
	AT-III-Partigen		5	23,6	21,4	19,8	19,4	21,6	19,4	
	AT-III-Quant.		6	25,9	22,6	22,5	23,5	24,4	22,5	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 7 HDHE	PTT-Pathromtin		1	41,3	36,6	41,4	34,6	40,9		
	PTT-Cephalopl.		2	31,2	26,2	30,6	24,7	28,0		
	AT-III-Amidolyt.		3	86	84	95	85	73		
	Rate-Assay		4	114,5	129,3	133,8	131,6	118,0		
	AT-III-Partigen		5	25,0	23,8	28,2	25,6	22,6		
	At-III-Quant.		6	26,9	22,4	26,5	25,7	25,0		
	Heparin		7	0	0	0,05	0,03	0,02		

-Anhang Nr.3 -

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Prophylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr. 8 Hp	PTT-Pathromtin		1	25,8	36,2	39,5	49,0	41,3		
	PTT-Cephalopl.		2	21,3	29,3	31,3	40,3	32,0		
	AT-III-Amidol.		3	90	81	78	45	92		
	Rate-Assay		4	111,2	127,0	119,5	161,1	196,9		
	AT-III-Partigen		5	25,0	23,8	20,6	13,6	26,2		
	AT-III-Quant.		6	26,0	25,7	23,2	16,8	25,4		
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 9 HDHE	PTT-Pathromtin		1	32,5	31,7	29,0	33,0	30,6	35,3	
	PTT-Cephalopl.		2	27,5	23,8	23,0	24,4	21,1	23,7	
	AT-III-Amidolyt.		3	81	89	93	92	96	96	
	Rate-Assay		4	101	134,3	182,6	207,6	211,2	186,2	
	AT-III-Partigen		5	24,0	27,0	30,0	29,6	30,0	30,8	
	AT-III-Quant.		6	26,2	28,7	28,4	29,1	29,8	28,1	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 10 Hp	PTT-Pathromtin		1	35,3	37,0	42,2	46,6	37,9	43,0	
	PTT-Cephalopl.		2	26,5	30,2	33,2	34,1	31,4	33,7	
	AT-III-Amidolyt.		3	83	80	73	83	89	94	
	Rate-Assay		4	80,6	96,7	141,4	162,5	211,4	180,7	
	AT-III-Partigen		5	23,2	26,8	22,0	22,6	24,6	26,6	
	At-III-Quant.		6	28,4	26,3	24,8	26,8	27,0	29,0	
	Heparin		7	0,06	0,09	0,11	0,12	0,13	0,12	

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Prophylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr. 11 Hp	PTT-Pathromtin		1	31,2	34,0	34,1	32,0	32,9	37,0	
	PTT-Cephalopl.		2	23,7	26,5	29,4	27,9	27,0	28,5	
	AT-III-Amidol.		3	93	92	89	92	98	90	
	Rate-Assay		4	90,4	89,9	129,3	106,9	110	133,9	
	AT-III-Partigen		5	25,0	25,0	23,4	26,2	26,8	23,2	
	AT-III-Quant.		6	26,0	25,9	24,6	26,5	26,5	24,6	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 12 Hp	PTT-Pathromtin		1	33,1	33,3	40,9	41,9	42,0	39,8	
	PTT-Cephalopl.		2	24,2	27,6	30,2	30,8	29,9	28,2	
	AT-III-Amidolyt.		3	85	88	79	76	81	81	
	Rate-Assay		4	111,1	147,7	209,2	144,1	130,2	198,9	
	AT-III-Partigen		5	23,2	23,2	21,4	21,4	21,6	21,4	
	AT-III-Quant.		6	23,8	23,8	21,3	18,1	21,3	22,5	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 13 HDHE	PTT-Pathromtin		1	33,0	36,0	40,2	37,5	37,6	39,4	
	PTT-Cephalopl.		2	23,3	26,1	23,4	27,9	26,0	29,3	
	AT-III-Amidolyt.		3	90	81	80	79	70	80	
	Rate-Assay		4	86,8	96,6	94,0	105,6	72,2	86,3	
	AT-III-Partigen		5	28,2	23,8	22,2	22,0	16,4	22,6	
	At-III-Quant.		6	28,9	26,7	25,4	24,6	21,3	24,4	
	Heparin		7	0,03	0	0	0	0	0	

-Anhang Nr. 5 -

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Proph-ylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr. 14 HDHE	PTT-Pathromtin		1	36,5	34,1	37,2	37,1	46,1	40,2	
	PTT-Cephalopl.		2	25,2	26,7	28,1	31,3	38,9	35,4	
	AT-III-Amidol.		3	86	82	84	75	74	97	
	Rate-Assay		4	91,4	138,3	129,8	129,7	98,0	129,8	
	AT-III-Partigen		5	28,6	28,6	27,6	23,2	21,4	28,6	
	AT-III-Quant.		6	27,6	28,7	27,5	24,4	22,5	26,7	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 15 Hp	PTT-Pathromtin		1	28,3	32,0	30,3	38,9	39,4	34,5	
	PTT-Cephalopl.		2	24,8	25,6	25,6	31,2	31,1	27,9	
	AT-III-Amidolyt.		3	87	88	82	70	67	76	
	Rate-Assay		4	94,9	125,3	90,4	93,5	124,8	128	
	AT-III-Partigen		5	22,0	24,0	22,2	20,2	18,8	20,2	
	AT-III-Quant.		6	24,7	23,7	25,4	23,9	22,7	24,8	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 16 Hp	PTT-Pathromtin		1	28,5	37,3	38,1	37,3	36,5		
	PTT-Cephalopl.		2	23,6	27,0	26,2	27,6	26,8		
	AT-III-Amidolyt.		3	90	76	70	61	72		
	Rate-Assay		4	81,0	109,9	72,5	61,7	56,4		
	AT-III-Partigen		5	27,9	22,6	21,4	17,3	18,8		
	At-III-Quant.		6	27,46	24,1	23,5	18,7	21,3		
	Heparin		7	0,01	0	0	0	0		

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Prophylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr. 17 HDHE	PTT-Pathromtin		1	31,7	31,8	36,6				
	PTT-Cephalopl.		2	23,8	24,8	26,7				
	AT-III-Amidol.		3	102	92	68				
	Rate-Assay		4	109,2	118,8	177,2				
	AT-III-Partigen		5	29,6	26,6	19,8				
	AT-III-Quant.		6	29,3	28,9	25,2				
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 20 Hp	PTT-Pathromtin		1	33,3	36,7	34,7	42,7	48,1	46,2	
	PTT-Cephalopl.		2	26,6	28,3	30,5	32,6	37,8	38,4	
	AT-III-Amidolyt.		3	87	88	86	81	76	65	
	Rate-Assay		4	123,5	149,5	175,2	145,9	135	116,9	
	AT-III-Partigen		5	26,2	26,2	24,6	23,8	22,6	19,4	
	AT-III-Quant.		6	28,4	28,9	28,2	26,5	24,8	21,3	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 21 HDHE	PTT-Pathromtin		1	30,4	27,1	30,7	34,6	29,8	33,8	
	PTT-Cephalopl.		2	24,6	20,1	22,4	25,0	24,5	24,0	
	AT-III-Amidolyt.		3	82	91	81	90	93	92	
	Rate-Assay		4	131,6	143,4	144,3	106,5	107,5	138,5	
	AT-III-Partigen		5	26,6	28,2	27,6	30,0	30,0	29,2	
	At-III-Quant.		6	27,8	27,8	28,7	28,7	28,6	27,8	
	Heparin		7	0,03	0,05	0,05	0,01	0,01	0,02	

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Proph-ylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr. 22 Hp	PTT-Pathromtin		1	75,9	35,6	38,1	40,6	62,7	64,3	
	PTT-Cephalopl.		2	52,1	29,7	28,5	32,5	43,2	43,4	
	AT-III-Amidol.		3	50	74	75	79	83	69	
	Rate-Assay		4	59,1	196,0	200,5	249,0	286,4	255,0	
	AT-III-Partigen		5	15,4	23,2	22,6	23,8	23,2	20,6	
	AT-III-Quant.		6	14,6	24,6	24,6	26,3	25,1	21,3	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 23 Hp	PTT-Pathromtin		1	26,1	21,2	43,5	35,7	44,3	39,4	
	PTT-Cephalopl.		2	26,5	19,8	28,7	28,2	34,2	30,2	
	AT-III-Amidolyt.		3	77	65	74	77	80	82	
	Rate-Assay		4	125,9	139,6	145,0	169,2	137,8	140,5	
	AT-III-Partigen		5	22,2	21,2	23,2	24,0	22,2	24,0	
	AT-III-Quant.		6	26,9	24,4	26,7	26,35	24,9	26,7	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 24 Hp	PTT-Pathromtin		1	30,0	44,8	51,1	50,1	55,4		
	PTT-Cephalopl.		2	33,6	37,8	46,0	40,6	43,1		
	AT-III-Amidolyt.		3	78	62	55	47	58		
	Rate-Assay		4	93,1	74,9	199,4	154,8	129,8		
	AT-III-Partigen		5	24,6	19,4	14,8	14,8	18,2		
	At-III-Quant.		6	23,8	22,9	18,1	16,8	20,0		
	Heparin		7	0	0	0	0	0		

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Prophylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr.25 HDHE	PTT-Pathromtin		1	40,7	35,8	32,3	33,2			
	PTT-Cephalopl.		2	29,5	27,7	25,3	25,2			
	AT-III-Amidol.		3	93	90	80	89			
	Rate-Assay		4	121,5	175,2	146,0	137,0			
	AT-III-Partigen		5	27,0	27,0	23,8	26,2			
	AT-III-Quant.		6	27,8	28,25	25,7	25,4			
	Heparin		7							
PAT.-Nr.26 Hp	PTT-Pathromtin		1	33,5	36,0	32,0	43,4	35,3	34,9	
	PTT-Cephalopl.		2	24,8	26,7	25,6	30,5	27,1	27,2	
	AT-III-Amidolyt.		3	92	92	90	87	85	84	
	Rate-Assay		4	103,8	128,9	164,7	245,2	168,2	138,1	
	AT-III-Partigen		5	24,0	25,6	27,0	25,6	22,6	23,8	
	AT-III-Quant.		6	27,3	27,2	27,3	26,0	26,5	24,4	
	Heparin		7							
PAT.-Nr.27 Hp	PTT-Pathromtin		1	30,5	29,2	27,7	27,6	29,7	30,3	
	PTT-Cephalopl.		2	24,3	24,5	20,9	25,0	25,0	23,2	
	AT-III-Amidolyt.		3	69	98	106	104	79	104	
	Rate-Assay		4	70,5	144,0	217,4	110,9	136	234	
	AT-III-Partigen		5	21,6	29,6	23,6	30,4	22,6	27,8	
	At-III-Quant..		6	19,4	27,0	28,2	23,2	28,4	28,4	
	Heparin		7	0,01	0,11	0,08	0,09	0,02	0,12	

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Prophylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.10	Norm.-bereich
PAT.-Nr.28 HDHE	PTT-Pathromtin		1	41,5	39,7	40,2	43,6	40,0	39,5	
	PTT-Cephalopl.		2	28,5	30,3	34,3	35,0	29,8	29,0	
	AT-III-Amidol.		3	87	77	76	74	81	76	
	Rate-Assay		4	79	78,8	77,9	80,4	103,8	94,0	
	AT-III-Partigen		5	25,0	19,6	21,6	21,6	25,6	22,6	
	AT-III-Quant.		6	26,3	25,2	25,4	24,3	27,3	25,7	
	Heparin		7							
PAT.-Nr.29 HDHE	PTT-Pathromtin		1	31,8	32,7	33,1	33,3	32,1	33,5	
	PTT-Cephalopl.		2	23,1	26,8	25,2	27,7	24,5	25,5	
	AT-III-Amidolyt.		3	88	96	88	96	91	88	
	Rate-Assay		4	77,1	123,1	95,5	64,3	68,9	102,9	
	AT-III-Partigen		5	25,0	29,6	27,0	28,2	25,6	23,8	
	AT-III-Quant.		6	28,8	29,6	28,7	28,9	26,9	26,0	
	Heparin		7							
PAT.-Nr.30 Hp	PTT-Pathromtin		1	29,7	28,3	30,5	37,6	43,4	37,7	
	PTT-Cephalopl.		2	22,7	22,5	25,6	29,1	34,4	30,8	
	AT-III-Amidolyt.		3	75	73	73	63	68	68	
	Rate-Assay		4	95,3	115,1	119,9	77,9	137,8	108,0	
	AT-III-Partigen		5	21,4	21,4	20,8	19,8	17,4	18,2	
	At-III-Quant.		6	20,9	19,7	20,0	18,1	18,1	17,8	
	Heparin		7	0,01	0,02	0,06	0,05	0,04	0	

AUSWERTUNG der Blutplasmen der Patienten,
die an einem APOPLEKTISCHEN INSULT erkrankten.

	TESTMETHODE	Proph-ylaxe	Merkm.	Tg.1	Tg.2	Tg.3	Tg.5	Tg.7	Tg.1	Norm.+ bereich
PAT.-Nr. 31 Hp	PTT-Pathromtin		1	33,1	36,3	40,9	41,8	42,0	39,9	
	PTT-Cephalopl.		2	24,2	27,6	30,2	30,9	30,0	28,2	
	AT-III-Amidol.		3	73	78	70	67	76	76	
	Rate-Assay		4	86,8	128,9	119,9	115,9	98,9	118,8	
	AT-III-Partigen		5	21,6	21,6	20,6	19,4	19,0	22,0	
	AT-III-Quant.		6	23,8	23,8	23,4	21,9	19,7	20,6	
	Heparin		7							
PAT.-Nr. 32 HDHE	PTT-Pathromtin		1	34,3	35,7	38,4	43,0	41,9	37,6	
	PTT-Cephalopl.		2	23,7	26,8	29,4	30,5	30,7	29,1	
	AT-III-Amidolyt.		3	78	82	81	94	77	79	
	Rate-Assay		4	106,7	141,8	141,4	144,1	119,7	111,0	
	AT-III-Partigen		5	24,7	26,4	25,8	23,7	22,1	22,9	
	AT-III-Quant.		6	26,2	27,0	27,0	26,8	24,1	23,3	
	Heparin		7							

Ganz besonderen Dank schulde ich

Herrn Priv.-Doz. Dr. P. Ostendorf

für die freundliche Überlassung des Themas, seine stete Bemühung um den Fortgang der Arbeit und die ermutigenden und wertvollen Anregungen bei der Diskussion der Ergebnisse.

Herzlichen Dank möchte ich auch den jeweiligen Assistenzärzten der Medizinischen und Neurologischen Universitätsklinik für die freundliche Unterstützung beim Erfassen der klinischen Befunde aussprechen.

Danken möchte ich ganz besonders Herrn Prof. Dr. Schubring vom Zentrum für Datenverarbeitung der Universität Tübingen für die sachdienliche Unterstützung bei statistischen Problemen.

Nicht zuletzt gilt man Dank den Laborantinnen von Labor 16 und 17 der Medizinischen Univ.-Klinik für die stets erfreuliche Kooperation bei gerinnungsphysiologischen Untersuchungstechniken.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. med. Frommhold vom Medizinischen Strahleninstitut für das freundliche Überlassen der computertomographischen Bilder.

Lebenslauf

Am 19. Dezember 1950 wurde ich, Willi Daiß, als Sohn des Steuerrates Wilhelm Daiß und dessen Ehefrau Emma Daiß, geb. Nagel, in Großdeinbach, Kreis Schwäbisch Gmünd, geboren. Die Konfession ist evangelisch.

Von 1957 an besuchte ich die Grundschule in Großdeinbach und wechselte 1961 in das mathematisch-naturwissenschaftliche Parler Gymnasium in Schwäbisch Gmünd, an dem ich im Mai 1970 die Reifeprüfung ablegte.
Bis Oktober 1970 absolvierte ich eine Ausbildung als technischer Angestellter bei der Zahnradfabrik in Schwäbisch Gmünd.
Von Oktober 1970 - März 1972 leistete ich meine Wehrdienstzeit ab.
Von 1972-1975 studierte ich Mathematik und Physik an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen.
Das Medizinstudium in Tübingen nahm ich mit dem Wintersemester 1975 auf und konnte es nach dem Praktischen Jahr an den Universitätskliniken in Tübingen am 27.4.1982 mit dem Staatsexamen abschließen.
Seit Juni 1982 bin ich als wissenschaftlicher Angestellter in der Medizinischen Universitätsklinik in Tübingen beschäftigt.